

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München  
Arbeit angefertigt unter der Leitung von  
Univ.-Prof. Dr. Mathias Ritzmann

---

Vergleichende Untersuchung von histopathologischen Veränderungen  
nach Injektion unterschiedlicher Adjuvantien mittels  
Thermographiekamera und histopathologischer Untersuchung

**Inaugural-Dissertation**

zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde  
der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von  
Christof Hilmer  
aus  
Straubing

München 2013

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Joachim Braun

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Mathias Ritzmann

Koreferent/en: Univ.-Prof. Dr. Gerd Sutter

Tag der Promotion: 09. Februar 2013

Meinen Eltern



## Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	11
2	Literaturübersicht	13
2.1	Injektionen	13
2.1.1	Parenterale Injektion beim Schwein	13
2.1.2	Subcutane und intramusculäre Injektion	13
2.1.3	Gewebeschäden und Zwischenfälle bei der Injektion	14
2.1.4	Lokale Verträglichkeit nach intramusculärer Injektion	14
2.2	Adjuvantien	15
2.2.1	Definition Suspension und Emulsion	16
2.2.2	Carbomer (ImpranFlex®)	17
2.2.3	Montanide ISA708® (Impran®)	17
2.2.4	Aluminiumhydroxid, Mineralöl ISA 25 VG®	18
2.3	Entzündung	19
2.3.1	Definition Entzündung	19
2.3.2	Am Entzündungsprozess beteiligte Zellen	20
2.3.3	Arten der Entzündung	21
2.3.4	Färbemethoden	22
2.4	Wärmebildkamera	22
2.4.1	Funktionsweise	23
2.4.2	Einsatz in der Humanmedizin	23
2.4.3	Einsatz in der Tiermedizin	23
3	Material und Methode	27
3.1	Ziel der Untersuchung	27
3.2	Verwendete Adjuvantien/ Impfstoffe	27
3.3	Instrumentarium	29
3.3.1	Kanülen	29
3.3.2	Wärmebildkamera	29
3.3.3	Messung der Körperinnentemperatur	31

3.4	Vorversuch	31
3.4.1	Gruppeneinteilung	31
3.4.2	Versuchsablauf	33
3.4.3	Versuchsparameter	34
3.5	Statistisches Gutachten Hauptversuch	35
3.6	Hauptversuch	35
3.6.1	Anzeige des Tierversuchsvorhabens	35
3.6.2	Gruppeneinteilung	35
3.6.3	Versuchsablauf	37
3.6.4	Versuchsparameter	40
3.6.5	Pathologie	41
3.6.5.1	Entnahme der Gewebeproben	41
3.6.5.2	Bearbeitung der Proben zur histopathologischen Untersuchung	42
3.6.5.3	Histopathologie	44
3.6.6	Statistische Auswertung	45
4	Ergebnisse	47
4.1	Vorversuch	47
4.1.1	Ergebnis Parameter Wärmebildkamera	47
4.1.2	Ergebnis Parameter Körperinnentemperatur	53
4.1.3	Ergebnis Score Allgemeinbefinden	58
4.1.4	Ergebnis Score lokale Gewebepalpation	58
4.2	Hauptversuch	59
4.2.1	Ergebnis Parameter Wärmebildkamera	59
4.2.2	Ergebnis Parameter Körperinnentemperatur	70
4.2.3	Ergebnis Score Allgemeinbefinden	80
4.2.4	Ergebnis Score lokale Gewebepalpation	80
4.3	Pathologisch-anatomische Befunde	82
4.4	Histopathologische Befunde	83
4.4.1	Hauptlokalisation der Entzündungsreaktion	83
4.4.2	Lokalisation und Intensität des höchsten Grades an Entzündung in der relevanten Gewebeprobe	86
4.4.3	Ergebnisse der Beurteilung der einzelnen Entzündungsparameter	89

5	Diskussion	105
5.1	Parameter Wärmebildkamera	105
5.2	Parameter Körperinnentemperatur	110
5.3	Score Allgemeinbefinden	112
5.4	Score lokale Gewebepalpation	112
5.5	Pathologie	114
5.6	Aussagekraft der beurteilten Parameter	115
6	Schlussfolgerung	119
7	Zusammenfassung	121
8	Summary	123
9	Abbildungsverzeichnis	125
10	Tabellenverzeichnis	129
11	Literaturverzeichnis	133
	Danksagung	139





## Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
cm	Zentimeter
EB	Einblutung
FI	Fibrin
FM	Fremdmaterial
ggrd.	geringgradig
h	Stunde
hgrd.	hochgradig
HR	Hohlraumbildung
i.m.	intramusculär
K	Kelvin
kg	Kilogramm
KT	Körperinnentemperatur
Lnn.	Lymphonodi
LY	Lymphozyten
mgrd.	mittelgradig
mm	Millimeter
MM	Monozyten und Macrophagen
MP	Muskelfaserpathologie
MR	mehrkernige Riesenzellen
MZP	Messzeitpunkt
NaCl	isotonische Kochsalzlösung
NE	Nekrose
NG	neutrophile Granulozyten
O/W	Öl in Wasser
PE	Plasmaerguss
PZ	Plasmazellen
s.c.	subcutan
W/O	Wasser in Öl
WB	Wärmebild/ Thermogramm



## 1 Einleitung

Im Rahmen der Prophylaxe werden in der Tiermedizin zahlreiche Schutzimpfungen durchgeführt. Dies ist insbesondere bei landwirtschaftlichen Nutztieren Routine. Bei Schweinen erfolgt die Impfung derzeit am häufigsten in Form einer intramuskulären Injektion. Bevor ein Präparat oder Impfstoff zugelassen wird, muss dieses zuerst gemäß den gesetzlichen Vorschriften geprüft werden. Ein besonderes Problem stellt die Situation der Verträglichkeitsprüfung von Impfstoffen anhand von Tierversuchen im Rahmen der Zulassungsprüfung und danach im Rahmen der Chargenprüfung dar. Die Arzneibuchmonographie „Impfstoffe für Tiere“ und die Richtlinie 2001/82/EG, geändert durch die Richtlinie 2009/9/EG, fordert für immunologische Tierarzneimittel Unbedenklichkeitsversuche, die vorzugsweise „mindestens an einer der empfindlichsten Zieltierarten und zumindest auf dem empfohlenen Verabreichungsweg mit dem größten Risiko durchgeführt werden“ sollen. Bei Substanzen und Hilfsstoffen mit gewebereizender Wirkung, wie Adjuvantien in Impfstoffen, ist diese Vorgehensweise von besonderer tierschutzrechtlicher Relevanz, da durch die Forderung nach der Durchführung an der empfindlichsten Tierart und auf dem Verabreichungsweg mit dem größten Risiko vorzugsweise Jungtiere zum Einsatz kommen. Diese Tiere müssen, um das Ausmaß der lokalen Gewebereaktion beurteilen zu können, im Rahmen von Tierversuchen stets euthanasiert werden.

In den letzten Jahren ist die Zahl der Versuchstiere in Deutschland kontinuierlich gestiegen. Im Jahr 2010 wurden annähernd 2,7 Millionen Wirbeltiere, darunter knapp 16000 Schweine für Tierversuchszwecke verwendet (BUNDESMINISTERIUM FÜR ERNÄHRUNG, LANDWIRTSCHAFT UND FORSTEN, 2011).

Ziel dieser Arbeit ist es, die klinisch-adspektorische Untersuchung der Injektionsstelle und die histopathologische Untersuchung des Gewebes im Bereich der Injektionsstelle mit der nicht-invasiven Thermographie zu vergleichen. Anhand der Ergebnisse beider Verfahren soll beurteilt werden, ob die Methode der Thermographie in der Lage ist, gleichwertige bzw. vergleichbare Ergebnisse zu liefern wie die Histopathologie.



## **2 Literaturübersicht**

### **2.1 Injektionen**

Bei landwirtschaftlichen Nutztieren werden bei der Prophylaxe sowie der Therapie die erforderlichen Arzneimittel größtenteils parenteral durch Injektion verabreicht (Tierärztliche Umschau, 2012). Bei Injektionen ist es im Allgemeinen nicht notwendig, den Applikationsort zu reinigen und zu desinfizieren (HEINRITZI, 2006).

#### **2.1.1 Parenterale Injektion beim Schwein**

Bei der parenteralen Injektion unterscheidet man beim Schwein zwischen der intracutanen, subcutanen, intramusculären, intravenösen, intraabdominalen, intratesticulären und intracardialen Injektion (HEINRITZI, 2006). In den vergangenen Jahren gewannen Injektionsmethoden wie die intracutane sowie die transdermale Applikation immer mehr an Bedeutung. Derzeit werden parenteral verabreichte Medikamente in der Schweinepraxis jedoch hauptsächlich subcutan oder intramusculär appliziert (Tierärztliche Umschau, 2012).

#### **2.1.2 Subcutane und intramusculäre Injektion**

Zur subcutanen Injektion ist grundsätzlich lockeres Bindegewebe im Bereich der Applikationsstelle notwendig (HEINRITZI, 2006). Beim Saugferkel ist daher die ideale Lokalisation für diese Art der Injektion die Kniefalte. Bei der Injektion ist darauf zu achten, dass die Kanüle zwischen den beiden Blättern der Kniefalte frei beweglich ist (HEINRITZI, 2006). Mastschweinen und adulten Schweinen sollte das Medikament in dem wenig behaarten Bereich verschieblicher Haut caudal des Ohransatzes verabreicht werden. Der Einstich erfolgt dabei senkrecht in dorsoventraler Richtung am höchsten Punkt des Ohrgrundes, wobei ebenfalls auf die freie Beweglichkeit der Kanüle zu achten ist (HEINRITZI, 2006). Bei ausgewachsenen und sehr gut fixierten Tieren empfiehlt sich auch eine Applikation in das lose Gewebe caudal des Ellbogens (PLONAIT, 2004).

Intramusculäre Injektionen sind beim Schwein in allen Altersgruppen grundsätzlich an der seitlichen Halsmuskulatur vorzunehmen. Die Einstichstelle befindet sich seitlich am Hals in Höhe des oberen Ohrgrundes am Übergang der glatten Haut in den lockeren Bereich des Ohrgrundes (HEINRITZI, 2006).

Erfolgt die subcutane bzw. intramusculäre Injektion in den Ohrgrund zu weit distal, besteht die Gefahr einer Verletzung der Gl. parotis, der Lnn. parotidei oder der

Lnn. retropharyngei laterales (PAULICK et al., 1967), bei weit medialem Einstich besteht die Gefahr der subfascialen Applikation, was zu einer erschwerten Entleerung führt (HEINRITZI, 2006). Der Ohrgrund bzw. Anteile der Ohrmuskulatur können verletzt werden, wenn die Kanüle zu weit cranial eingestochen wird (PAULICK et al., 1967).

### **2.1.3 Gewebeschäden und Zwischenfälle bei der Injektion**

Gewebeschäden können sowohl durch mangelnde fachliche und/ oder anatomische Kenntnisse des Anwenders als auch durch das Injektionsinstrumentarium und das Injektat selbst hervorgerufen werden. Im Allgemeinen sind Schweine aber unempfindlich gegenüber injektionsbedingten Infektionen (AMANN, 1954; ZELLER, 1958). Nach AKTAS et al. (1995) führt eine intramuskuläre Injektion verschiedener Injektate zu einem signifikanten Anstieg des Enzyms Creatinkinase im Serum, wodurch eine Gewebeschädigung nachgewiesen werden kann.

Eine versehentliche subcutane Injektion führt nach AMANN (1954) sehr viel häufiger zu Komplikationen als eine versehentliche intramuskuläre Injektion, da sich die gewebeschädigende Wirkung reizender Injektionsmittel in der schlechter durchbluteten Subcutis stärker ausbilden kann als im gut durchbluteten Muskelgewebe.

Die häufigsten Zwischenfälle bei der intramuskulären Injektion bestehen nach EIKMEIER (1973) in der Ausbildung von Spritzenabszessen und Phlegmonen, Anstechen eines Gefäßes, Nervenverletzungen, Abbrechen der Injektionskanüle mit Verbleiben im Tier und in der Ausbildung aseptischer Nekrosen. Nach PLONAIT (2004) ist die Injektion von Medikamenten im Bezug zu ihrer massenhaften Durchführung selten Ursache der Ausbildung von Abszessen. BREUHAUS et al. (1983) berichten bei Pferden von Clostridieninfektionen nach intramuskulärer Injektion.

### **2.1.4 Lokale Verträglichkeit nach intramuskulärer Injektion**

Die lokale Verträglichkeit von Medikamenten bzw. den einzelnen Wirk- und Hilfsstoffen ist von vielen Parametern abhängig.

Hierzu zählen unter anderem Tonizität, Konzentration und pH-Wert des Arzneimittels, Volumen und Applikationsgeschwindigkeit, Größe der Kanüle und zuletzt auch die

chemische Beschaffenheit des Wirkstoffes und der im Arzneimittel enthaltenen Hilfsstoffe (KERN, 1987).

## **2.2 Adjuvantien**

Adjuvantien sind definiert als eine Gruppe strukturell heterogener Bestandteile eines Impfstoffes, die verwendet werden, um die Immunantwort auf ein Antigen zu erreichen oder zu verstärken (GUPTA et al. 1993; SCHIJNS 2000; VAN DER VEN, 2002). Sie sind demnach Hilfsstoffe, welche die Wirkung von immunologischen Arzneistoffen unterstützen bzw. verstärken sollen. Zudem kann nach KAEBERLE (1986) bei einer kombinierten Anwendung von Antigen und Adjuvans die Antigenmenge reduziert werden. Der genaue Wirkmechanismus von Adjuvantien ist allerdings noch nicht vollständig verstanden (COX und COULTER, 1997; SCHIJNS, 2000; KÜLBS, 2005).

Weiter ist unklar, ob Adjuvantien direkt am Injektionsort wirken oder erst später im lymphatischen Gewebe (KÜLBS, 2005). Als gesichert gilt, dass sie lösliche Proteinantigene an partikuläres Material binden, das die antigenpräsentierenden Zellen schneller aufnehmen (JANEWAY et al., 2002). Des Weiteren veranlassen Adjuvantien dendritische Zellen, Macrophagen und Lymphozyten zum Applikationsort zu wandern, die Antigene durch Phagozytose und Pinozytose aufzunehmen, zum lymphatischen Gewebe abzutransportieren und dort das Antigen wirkungsvoll zu präsentieren (THEIN, 1988; JANEWAY et al., 2002).

Adjuvantien führen nach der Applikation zu einer lokalen Gewebereizung, wodurch Zellen des angeborenen Immunsystems, unter anderem Macrophagen und neutrophile Granulozyten, angelockt werden (JANEWAY et al., 2002; KÜLBS, 2005). Dabei reagiert der Organismus auf den mechanischen, chemischen und mikrobiologischen Reiz, der jeweils durch die Impfung ausgelöst wurde. Hierbei wirken Einstich und eingebrachtes Volumen mechanisch, die Zusammensetzung des Arzneimittels chemisch und die eingebrachten Mikroorganismen, deren Bruchstücke oder Stoffwechselprodukte mikrobiologisch (HERGENHAN, 2009).

Ein weiterer Aspekt der Wirkungsweise von Adjuvantien ist die Depotwirkung. Bei alleiniger Injektion des Antigens würde es in relativ kurzer Zeit im Organismus abgebaut werden, wodurch die Antikörperbildung viel schwächer ausgeprägt wäre. Ist das Antigen jedoch an ein Adjuvans adsorbiert, verbleibt es länger im Gewebe und kann somit über einen längeren Zeitraum Immunzellen aktivieren (KÜLBS, 2005). Ölhaltige Adjuvantien zeigen dabei stärkere Depotwirkung als beispielsweise Aluminiumverbindungen (COX und COULTER, 1997; SCHINJS, 2000). Nach VAN DER VEN (2002) können Wasser in Öl (W/O) Emulsionen eine lokal chronische Entzündungsreaktion stimulieren, die eine Ansammlung von Macrophagen und eine verlangsamte Freigabe des Antigens bewirkt. Dadurch kann die Halbwertszeit des Antigens im Körper um ein Vielfaches verlängert und die Immunantwort durch den verlängerten Kontakt verstärkt werden. Adjuvantien werden regelmäßig in Totimpfstoffen und Toxoiden verwendet, nicht jedoch in Lebend- und Ganzkeimimpfstoffen, da diese zum Erzielen einer entsprechenden Immunantwort in der Regel keine Adjuvantien benötigen (TIZARD, 1981).

### **2.2.1 Definition Suspension und Emulsion**

Suspensionen sind heterogene Mischungen aus einer Flüssigkeit, die als Träger fungiert, und darin suspendierten, unlöslichen Stoffen. Die Nichtmischbarkeit führt zum Absinken des unlöslichen Stoffes. Suspensionen sind daher vor dem Gebrauch aufzuschütteln und erst danach makroskopisch homogen.

Unter einer Emulsion versteht man ein fein verteiltes Gemisch einer wässrigen Komponente und einer fetthaltigen Komponente, die normalerweise nicht mischbar sind. Emulsionen müssen vor Gebrauch nicht aufgeschüttelt werden.

Man unterscheidet zwischen zwei Emulsionstypen: Wasser in Öl – Emulsion (W/O) und Öl in Wasser – Emulsion (O/W). Bei der W/O Emulsion teilt sich das Wasser in winzige Tröpfchen, die von der fetthaltigen Komponente umschlossen werden. Bei der O/W Emulsion werden winzige Fettröpfchen vom Wasser umschlossen. Um diesen Zustand zu erreichen, benötigt man Hilfsstoffe, so genannte Emulgatoren oder Tenside (BEUBLER, 2011).



### **2.2.2 Carbomer (ImpranFlex®)**

Bei einem Carbomer handelt es sich chemisch gesehen um eine Polyacrylsäure. Diese wird synthetisch hergestellt und stellt ein hochmolekulares Polymer der Acrylsäure dar. In der Pharmazie finden in der Regel homopolymere Polyacrylsäuren Anwendung, sie bestehen aus mehreren gleichen Grundbausteinen (Monomere).

ImpranFlex® wird auf Wasserbasis hergestellt und enthält ein Geflecht von querverbundenen Polymeren. Diese sollen wie ein Schwamm das Antigen binden. Daraus ergeben sich zwei Vorteile: Zum einen führt das in Lösung befindliche Antigen im Impfstoff sofort nach der Injektion zu einer Immunantwort, zum anderen wird das in der Matrix gebundene Antigen nur langsam freigesetzt, wodurch eine Art Boosterwirkung eintritt (BOEHRINGER INGELHEIM, 2012c).

Das Adjuvans Carbomer ist in dem PCV-2 Impfstoff Ingelvac CircoFLEX® der Firma Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Ingelheim/ Rhein, enthalten und wird dort als ImpranFlex® bezeichnet (BOEHRINGER INGELHEIM, 2012c; BOEHRINGER INGELHEIM, 2012d).

Die Autoren SCHWARTZ et al. (2007) und PETERSEN et al. (2008) konnten in ihren vergleichenden Studien mit Ingelvac CircoFLEX® und physiologischer Kochsalzlösung bezüglich der lokalen Verträglichkeit keine signifikanten Unterschiede zwischen den Ergebnissen der Impf- und der Kontrolltiere feststellen.

Am Tag der Impfung kann sehr häufig eine leichte, vorübergehende Erhöhung der Körpertemperatur auftreten (BOEHRINGER INGELHEIM, 2008a).

### **2.2.3 Montanide ISA708® (Impran®)**

Bei der Adjuvansformulierung Impran® handelt es sich um eine Wasser in Öl Emulsion, die auf dem Adjuvans Montanide ISA 708® basiert. Impran® ist eine hoch stabile Emulsion, die einen Komplex ausbildet, welcher das Antigen sowohl in der Wasser- als auch in der Ölphase bindet. Dies führt zu einer sofortigen und auch langsameren Freisetzung des Antigens nach der Applikation. Montanide ISA 708® besteht aus einer Mischung von vier verschiedenen, biologisch abbaubaren Pflanzenölen, die in vivo komplett verstoffwechselt werden können (SEPPIC, 2011a; BOEHRINGER INGELHEIM, 2012b).

Montanide ISA 708® ist als Adjuvans in dem Mycoplasma hyopneumoniae Impfstoff Ingelvac M.hyo® der Firma Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Ingelheim/

Rhein, enthalten und wird unter dem Namen Impran® vermarktet (BOEHRINGER INGELHEIM, 2012a; BOEHRINGER INGELHEIM, 2012b).

Nach HERBACH (2005) könne durch den Einsatz einer Wasser-in-Öl Formulierung auf Pflanzenölbasis jede mögliche Nebenwirkung reduziert werden. Die Montanide ISA Adjuvantien enthalten unterschiedliche Anteile an metabolisierbaren Ölen und Surfactants. Subcutan an Kaninchen, Mäuse oder Meerschweinchen verabreichtes Montanide ISA 740® wird allgemein gut vertragen, andere Montanide Adjuvantien werden tierartlich unterschiedlich, aber in der Regel viel besser als FCA (Komplettes Freund Adjuvans) vertragen (BUNDESAMT FÜR VETERINÄRWESEN, 1999).

Montanide ISA Adjuvantien wurden vom Committee for Medical Products for Veterinary use (CVMP) für den Gebrauch in immunologischen Produkten als sicher befunden und sind im Annex der VO 470/2009 EG beinhaltet.

In der Gebrauchsinformation führt Boehringer Ingelheim unter Nebenwirkungen Apathie und Appetitlosigkeit, die nach wenigen Tagen abklingt, auf. Des Weiteren werden Schwellungen, die teils fester Konsistenz und 2cm im Durchmesser erhaben sind, geschildert. Diese Erscheinungen klingen nach bis zu zwei Tagen ab. Außerdem können in sehr seltenen Fällen post mortem an der Einstichstelle granulomatöse Entzündungen, hauptsächlich durch nicht fachgerechte Injektionstechnik hervorgerufen, beobachtet werden. Zudem besitzt der Impfstoff aufgrund des öligen Charakters eine hohe Viskosität und soll vor der Applikation mindestens auf Raumtemperatur erwärmt werden. Die Injektion soll mit einer Kanüle von mindestens 1,2mm Durchmesser durchgeführt werden (BOEHRINGER INGELHEIM, 2007).

#### **2.2.4 Aluminiumhydroxid, Mineralöl ISA 25 VG®**

Nach KÜLBS (2005) haben sich Aluminiumhydroxid oder Aluminiumphosphat als Adjuvantien in Impfstoffen sehr lange bewährt, der erste Einsatz erfolgte von GLENNY et al. (1926). Aluminiumverbindungen haben einen Depoteffekt, aktivieren das Komplementsystem und stimulieren die Bildung und Freisetzung von IL 1, IL 4 und TH2-Zellen mit verstärkter IgG- und IgE-Produktion. Bei der Herstellung einer Antigen-Adjuvans-Lösung muss darauf geachtet werden, dass das Antigen am Aluminiumgel adsorbiert wird. Für die primäre Adsorption sind der pH-Wert der Impflösung und die isoelektrischen Punkte von Antigen und Gel entscheidend. (SEEBER et al., 1991; HARTINGER und MATEIS, 1998; KÜLBS, 2005).

Als Nebenwirkungen treten nach KÜLBS (2005) bei aluminiumhaltigen Adjuvantien milde Reaktionen wie Erytheme und leichte Schwellungen an der Injektionsstelle auf. Nach PRANGE (2004) gilt Aluminiumhydroxid als Adjuvans als besonders gut verträglich. GASS-COFRE konnte 2007 nach Applikation eines aluminiumhydroxidhaltigen Rotlaufimpfstoffes bei Sauen keine lokalen Reaktionen an der Injektionsstelle feststellen. In einer Untersuchung von HERGENHAN (2009) wurde der Verbleib von aluminiumhydroxidhaltigem Adjuvans am Applikationsort bei Frettchen beschrieben; im gesamten Untersuchungszeitraum von bis zu 24 Wochen post applicationem konnten Rückstände des Adjuvans festgestellt werden.

Montanide ISA 25 VG<sup>®</sup> ist ein Adjuvans für Öl in Wasser (O/W) Emulsionen auf Mineralölbasis und dient der Stabilisierung der Emulsion (SEPPIC, 2011b).

Nachweise über die Verträglichkeit von Montanide ISA 25 VG<sup>®</sup> sind unter Punkt 2.2.3 dargelegt.

Der Influenza-Impfstoff Ingelvac Flu<sup>®</sup> der Firma Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Ingelheim/ Rhein, enthält eine Mischung aus beiden oben aufgeführten Adjuvantien.

Als Nebenwirkungen des Ingelvac Flu<sup>®</sup> Impfstoffes führt Boehringer Ingelheim eine vorübergehende Erhöhung der Körpertemperatur auf, die ohne Therapie innerhalb von zwei Tagen abklingt. Bei versehentlicher subcutaner Applikation könnten Hautveränderungen, leichte Schwellungen und Rötungen an der Injektionsstelle auftreten. Bei der Impfung tragender Sauen kann kurzzeitig eine verringerte Futteraufnahme beobachtet werden (BOEHRINGER INGELHEIM, 2008b).

## **2.3 Entzündung**

### **2.3.1 Definition Entzündung**

Die Entzündung ist eine komplexe, sehr fein und individuell regulierbare Reaktion eines jeden Organismus unter Beteiligung des Kreislauf- und Immunsystems sowie des ortsständigen Bindegewebes und Parenchyms. Die Entzündungsreaktion verfolgt dabei im Wesentlichen drei Ziele: erstens, die Noxe und deren Folgen zu eliminieren, zweitens, deren Auswirkungen so gering wie möglich zu halten und drittens, den ursprünglichen Zustand wiederherzustellen. Mit jeder akuten Entzündung gehen die fünf Kardinalsymptome Rubor, Tumor, Calor, Dolor und Functio laesa einher.

Als Regeneration bezeichnet man den Ersatz von zugrunde gegangenen Zellen durch identische und für das Gewebe typische Zellen. Ist dies nicht möglich, kommt es zur Reparation. Hierbei kommt es zur Bildung von Ersatzgewebe, welches zunächst aus aktivem Granulationsgewebe besteht, das später durch faserreiches Bindegewebe ersetzt wird (BAUMGÄRTNER und GRUBER, 2011).

### 2.3.2 An der Entzündung beteiligte Zellen

**Neutrophile Granulozyten** gehören zur Gruppe der Leukozyten, sie sind die ersten weißen Blutkörperchen, die während eines Entzündungsgeschehens im Exsudat auftreten. Ihre Aufgabe ist es, durch Phagozytose, Sekretion und respiratory burst den Abbau bzw. die Abtötung von Erregern, Fremdsubstanzen oder Tumorzellen zu fördern und deren Ausbreitung bis zum Anlaufen der erworbenen Immunantwort zu hemmen. Der respiratory burst stellt einen sauerstoffabhängigen Mechanismus dar, der vorrangig in neutrophilen Granulozyten und in Macrophagen stattfindet. Dabei steht die Bildung von freien, reaktiven Sauerstoffverbindungen im Vordergrund. Damit ist der respiratory burst in der Lage, beim Abbau und der Abtötung von schädigenden Noxen weitaus wirksamer zu agieren als lysosomale Prozesse. Die Sekretion und Freisetzung des Granulainhalts der neutrophilen Granulozyten besitzt eine entzündungsinduzierende und verstärkende Wirkung, wodurch sie vor allem bei der akuten Entzündung eine herausragende Rolle einnehmen.

**Macrophagen** sind die wichtigsten Vertreter des mononukleären Phagozytensystems (MPS), das aus nahe verwandten, aus dem Knochenmark stammenden Zellen besteht. Hierzu zählen u.a. Blutmonozyten und Gewebemacrophagen. Man unterscheidet zwischen zwei Typen von Gewebemacrophagen: zum einen jene, die in spezifischen Organen und Geweben beheimatet sind und zum anderen jene, die sich als Antwort auf Entzündungsreize aus Monozyten entwickeln und aus dem Blut ins Gewebe eingewandert sind. Monozyten sind nach etwa 10 Stunden im Rahmen einer Entzündung im Gewebe nachweisbar und erreichen ihren höchsten Gehalt nach etwa 24 Stunden. Macrophagen sind sowohl zur Antigenpräsentation, Phagozytose mit respiratory burst als auch zur Sekretion von Zytokinen befähigt. Monozyten und Macrophagen sind typische Zellen für eine chronische Entzündung. Aus den hochaktivierten Macrophagen entwickeln sich häufig Epitheloidzellen und mehrkernige Riesenzellen, sie finden sich häufig bei granulomatösen Entzündungsformen.

Bei den **mehrkernigen Riesenzellen** können zwei unterschiedliche Formen im Gewebe auftreten. Die mehrkernigen Riesenzellen vom sogenannten Fremdkörpertyp zeichnen sich morphologisch dadurch aus, dass ihre Zellkerne unregelmäßig im Zytoplasma verteilt liegen. Bei den Langhans'schen Riesenzellen weisen die Zellkerne eine periphere, hufeisenförmige Anordnung im Zytoplasma auf.

**Lymphozyten** sind Zellvertreter der spezifischen Immunität und spielen beispielsweise bei Virusinfektionen und Erkrankungen mit längerer Antigenpersistenz eine entscheidende Rolle. Sie sind somit typische Vertreter einer chronischen Entzündungsreaktion. Sie gelangen ab 24 bis 48 Stunden zu akuten Entzündungsherden. Nach geeigneter Stimulation differenzieren sich B-Lymphozyten in **Plasmazellen**, die in der Lage sind, Immunglobuline zu sezernieren. Diese dienen der Opsonisierung der Antigene und erleichtern auf diesem Weg deren Phagozytose (ACKERMANN, 2009a und 2009b; BAUMGÄRTNER und SCHMIDT, 2011).

### 2.3.3 Arten der Entzündung

Die **eitrige oder purulente Entzündung** ist eine Form der akuten Entzündung, die durch das Auftreten zahlreicher neutrophiler Granulozyten gekennzeichnet ist. Sie wird vorwiegend durch Bakterien verursacht. Sind keine Erreger beteiligt, bezeichnet man sie als sterile eitrige Entzündung.

Die treibende Kraft für die Entstehung einer eitrigen Entzündung sind chemotaktische Faktoren, die ein Auswandern der Zellen aus den Gefäßen und ihre Ansammlung am Ort der Entzündung hervorrufen. Diese Form der Entzündung kann sich sekundär beispielsweise aus einer serösen Entzündung entwickeln, aber auch primär durch entsprechende Noxen bedingt sein. Eiter besteht aus vitalen und degenerierten neutrophilen Granulozyten, Zelldetritus und je nach Ätiologie zusätzlich aus Bakterien.

Als **fibrinöse Entzündung** wird eine akute Entzündung bezeichnet, bei der eine stark erhöhte Gefäßpermeabilität zum Austritt von Blutplasma, welches Fibrinogen enthält, führt. Das entzündliche Exsudat ist durch geronnenes Fibrin außerhalb der Gefäße sowie geringe Leukozytenbeimengungen gekennzeichnet. Das entstehende Fibrinnetz soll einerseits die Ausbreitung der Noxe verhindern, andererseits kann auf diesem Weg die Mikrozirkulation des Gewebes eingeschränkt und dadurch die Entstehung einer Nekrose begünstigt werden.

Eine Nekrose stellt eine unwiederbringliche Zerstörung der Zelle dar. Nekrosen entstehen energieunabhängig indirekt durch anhaltende Schädigungen, bei Überforderung der zellulären Adaptationsmechanismen oder direkt durch massive, letal wirkende Noxen.

**Granulomatöse Entzündungen** sind durch die vorherrschende Anwesenheit von Zellen des Mononukleären Phagozytose Systems (MPS), also Monozyten, Macrophagen, mehrkernigen Riesenzellen, Lymphozyten und Plasmazellen, gekennzeichnet. Granulomatöse Entzündungen werden in der Regel durch schwer eliminierbare Noxen hervorgerufen (ACKERMANN, 2009a und 2009b; BAUMGÄRTNER und SCHMIDT, 2011).

#### **2.3.4 Färbemethoden**

In der Histopathologie gehören die Hämatoxylin-Eosin (HE) Färbung und die Giemsa Färbung zum Standard in der Diagnostik.

Die HE Färbung stellt ein Routineverfahren dar, bei dem sich das Zytoplasma rot und der Zellkern blau darstellen.

Die Giemsa Färbung liefert einen guten Kontrast zwischen Zellen und der Interzellulärsubstanz. Sie dient daher der Zelldifferenzierung, vor allem von Lymphozyten und Plasmazellen. Zellen und Zellkerne erscheinen in unterschiedlichen Blautönen, die Granula der eosinophilen Granulozyten orange (MC GAVIN und ZACHARY, 2009; BAUMGÄRTNER und GRUBER, 2011).

#### **2.4 Thermographie**

Die Anwendungsmöglichkeiten der Thermographie sind sehr vielseitig. In der Medizin werden Wärmebildkameras immer häufiger eingesetzt, beispielsweise um Entzündungsherde besser zu orten oder um Tumordiagnosen zu untermauern bzw. genauer definieren zu können.

### **2.4.1 Funktionsweise einer Wärmebildkamera**

Alle Objekte, auch Menschen und Tiere, deren Körper eine Temperatur oberhalb des absoluten Nullpunktes (0K) besitzt, senden Wärmestrahlung in Form von elektromagnetischen Wellen aus. Diese Wärme- bzw. Infrarotstrahlung wird von den Wärmebildkameras erfasst und in verschieden abgestuften Farbtönen als Wärmebild auf einem Bildschirm dargestellt. Jedem Farbton ist hierbei eine genaue Temperatur zugeordnet. Dadurch kann dem Betrachter eine Wärmeverteilung des betrachteten Gegenstandes mit fließenden Übergängen angezeigt werden.

Die Erzeugung eines Wärmebildes ist technisch sehr aufwendig und nur mit Hilfe modernster Rechnersysteme möglich (INFRATEC, 2011b).

### **2.4.2 Einsatz in der Humanmedizin**

Da sich eine Vielzahl von Krankheitsbildern im Rückschluss auf die Verteilung der Körpertemperatur diagnostizieren lässt, findet die Thermographie in der Humanmedizin vor allem in der Angiographie, der Dermatologie und der Onkologie Anwendung. Für den Einsatz in der Humanmedizin bietet die Thermographie noch zwei weitere Vorteile gegenüber anderen bildgebenden Verfahren: Wärmebildkameras sind schnell und überall einsatzbereit und liefern in wenigen Sekunden ein Ergebnis und sind im Vergleich mit anderen medizinischen Gerätschaften relativ kostengünstig (FLIR SYSTEMS, 2011; INFRATEC, 2011a).

### **2.4.3 Einsatz in der Tiermedizin**

Die Thermographie erfolgt ähnlich wie bei einem herkömmlichen Foto aus nächster Nähe, jedoch ohne Kontakt, sie ist somit nicht-invasiv. Dies ist vor allem für einen Einsatz in der Tiermedizin ein entscheidendes Kriterium, da die Tiere für das Anfertigen eines Wärmebildes weder fixiert noch sediert werden müssen, sondern in ihrer gewohnten Umgebung ohne Stress bleiben können. Dies stellt einerseits für den Anwender einen großen zeitlichen Vorteil dar, andererseits ist die Thermographie aufgrund der nicht-invasiven Methode beliebig oft reproduzierbar.

Die Wärmebildkamera findet in den letzten Jahren immer mehr Anwendungsgebiete in der Tiermedizin, hauptsächlich zur Auffindung von entzündlichen Prozessen (RÖHLINGER et al., 1979; GLAS, 2008).

SCHULZE (2003) untersuchte die Anwendbarkeit der Thermographie am Pferdehuf. Es wurden Thermogramme von gesunden Hufen untereinander und mit pathologisch veränderten Hufformen verglichen. Aufgrund der Ergebnisse konnte bewiesen werden, dass die Thermographie als bildgebendes Verfahren in der Diagnostik von Huferkrankungen eine sinnvolle Hilfestellung leisten kann.

Im Rinderbereich wurde die Anwendbarkeit der Thermographie von GLAS (2008) im Hinblick auf die Erkennung von Euterentzündungen untersucht. Hier konnten entzündliche Prozesse in einem sehr frühen Stadium sichtbar gemacht werden. Die subklinische Klauenrehe beim Rind wurde von WILHELM (2010) im Hinblick auf einen Zusammenhang zum Energiestoffwechsel der Kuh mittels der Thermographie untersucht.

Eine Studie von SAVARY et al. (2008) befasste sich mit der Eignung der Thermographie zur Erfassung von Entzündungen an den Gliedmaßen von Mastschweinen. Die Autoren kamen zu dem Ergebnis, dass die Thermographie als alleinige Methode zur Diagnose von Gelenkentzündungen bei Mastschweinen nicht ausreicht, da beim Einsatz der Thermographie die externen Störfaktoren kritisch zu beurteilen sind. Aufgrund des erheblichen Einflusses der Umgebungstemperatur sowie der Luftfeuchtigkeit, des Kamera-Tier-Abstands, des Alters und des Gewichts der Tiere sollten diese Faktoren bei vergleichenden Untersuchungen entweder konstant gehalten oder durch die Verwendung von entsprechenden Korrekturwerten berücksichtigt werden.

GABRIEL (2008) kam in einer vergleichenden Untersuchung von Thermographie und Pathologie von Gelenkentzündungen bei Schweinen zu dem Ergebnis, dass die Thermografie weder in Bezug auf die visuelle Beurteilung mittels Hot Spots noch in Bezug auf die Methode der Temperaturdifferenz zwischen Referenz- und Zielbereich ein ausreichend zuverlässiges Instrumentarium zur Identifizierung von Gelenkentzündungen bei Mastschweinen darstellt. Die thermographischen Befunde dürfen folglich nicht als alleiniges Kriterium für die Diagnose von Gelenkentzündungen verwendet werden, sondern müssen durch weitere Abklärungen ergänzt und in ein diagnostisches Gesamtbild eingepasst werden.

TRAULSEN et al. (2010) untersuchten die Einsatzmöglichkeiten der Infrarotthermographie zur Messung der Körpertemperatur bei Sauen. In dem durchgeführten Versuch bei Sauen um den Abferkelzeitpunkt wurden an den



Lokalisationen Auge, Gesäuge, Ohrgrund, Innenohr und Scham zweimal täglich Körperoberflächentemperaturen thermographisch erfasst. Als Referenztemperatur wurde die zeitgleich gemessene Rektaltemperatur herangezogen. Zusammenfassend ließ sich feststellen, dass die Infrarotthermographie ein sensibles Verfahren zur berührungslosen Erfassung von Wärmestrahlung ist, mit dem Veränderungen der Körperoberflächentemperatur schnell erkannt werden können. Für die Schätzung der Körpertemperatur schienen die Lokalisationen Gesäuge und Scham am besten geeignet, da sie die höchsten Korrelationen zur Rektaltemperatur sowie einen sehr ähnlichen Verlauf wie die Rektaltemperatur aufweisen. Zudem weise die Lufttemperatur einen signifikanten Einfluss auf, der sich stärker auf die apikalen als auf die körperkernnäheren Lokalisationen auswirke. Mit steigender Umgebungstemperatur werde die Differenz der Höchstwerte zu den Tiefstwerten der Hauttemperatur des Körpers geringer.

WARRISS et al. (2006) zeigten in einer Studie an einem Schlachthof, dass die mittlere Innenohrtemperatur, gemessen mit einer Wärmebildkamera, signifikant korreliert war mit der mittleren Bluttemperatur der Tiere, gemessen während des Ausblutungsvorganges im Verlauf der Schlachtung.



### 3 Material und Methode

Der im Folgenden beschriebene Vorversuch wurde im Juli 2010 auf der Versuchsstation Thalhausen der TU München durchgeführt. Die Auswertung der vor Ort erhobenen Daten erfolgte an der Klinik für Schweine der LMU München, Oberschleißheim.

Der im Weiteren beschriebene Hauptversuch wurde an der Klinik für Schweine der LMU München im November 2010 durchgeführt. Dort erfolgten die Temperaturmessungen mit der Wärmebildkamera sowie die Auswertung der gesammelten Daten.

Die Gewebeprobenentnahmen sowie die pathologisch-anatomischen und histopathologischen Untersuchungen erfolgten im Institut für Tierpathologie der LMU München.

#### 3.1 Ziel der Untersuchung

Ziel der beiden Versuche war eine vergleichende Untersuchung von lokalen Gewebeveränderungen nach Injektion unterschiedlicher Adjuvantien. Hierzu wurde das Gewebe im Bereich der Applikationsstelle mit der nicht-invasiven Thermographie am lebenden Tier und mittels histopathologischer Gewebeuntersuchung am toten Tier untersucht. Bei der Auswertung der gesammelten Daten wurde darauf geachtet, ob sich mit der Wärmebildkamera vergleichbare bzw. gleichwertige Ergebnisse erzielen lassen wie mit dem bisherigen Goldstandard der histopathologischen Untersuchung.

#### 3.2 Verwendete Adjuvantien/ Impfstoffe

Die vergleichende Untersuchung von Wärmebildkamera und Histopathologie wurde anhand der Impfung von Ferkeln mit 3 Impfstoffen der Firma Boehringer Ingelheim durchgeführt. Alle drei Impfstoffe waren zu Versuchsbeginn in Deutschland für die jeweilige Indikation beim Schwein zugelassen. Bei der Auswahl der Impfstoffe wurde darauf geachtet, dass die Impfstoffe auf verschiedenen Adjuvantien basieren.

Namentlich handelt es sich um die Impfstoffe Ingelvac CircoFLEX<sup>®</sup> (A), Ingelvac M.hyo<sup>®</sup> (B) und Ingelvac Flu<sup>®</sup> (C), siehe dazu Tabelle 1.

Den Tieren der Kontrollgruppe (D) wurde anstelle des Impfstoffes isotonische Kochsalzlösung in der jeweiligen Dosierung des Impfstoffes injiziert.

**Tabelle 1: Übersicht über die verwendeten Impfstoffe/ Injektate bei den einzelnen Gruppen im Vor- und Hauptversuch**

	<b>Gruppe A</b>	<b>Gruppe B</b>	<b>Gruppe C</b>	<b>Gruppe D</b>
<b>Impfstoff/ Injektat</b>	Ingelvac CircoFLEX®	Ingelvac M.hyo®	Ingelvac Flu®	Isotonische Natriumchlorid- Lösung 0,9% ad us.vet. B.Braun®
<b>Adjuvans</b>	Carbomer	Montanide ISA 708®	Aluminiumhydroxid, Montanide ISA 25 VG®	-
<b>Mindest- alter</b>	2 Wochen	3 Wochen	8 Wochen	entsprechend der Gruppen- zugehörigkeit
<b>Indikation</b>	Aktive Immunisierung gegen das Porcine Circovirus Typ 2 (PCV 2)	Aktive Immunisierung zur Reduktion von Lungenläsionen infolge einer Mycoplasma hyopneumoniae Infektion	Aktive Immunisierung zur Induktion einer spezifischen Immunantwort gegen porcine Influenzaviren der Antigenkombi- nationen H1N1 und H3N2 und zum Schutz vor klinischen Erkrankungen bzw. zur Milderung des Krankheitsver- laufes der durch die Subtypen H1N1 und H3N2 induzierten Schweineinfluenza	Kontrollgruppe

### 3.3 Instrumentarium

#### 3.3.1 Kanülen

Zur intramuskulären Applikation wurden für jedes Tier neue, sterile Einmalspritzen und Kanülen verwendet (Sterican<sup>®</sup>, B.Braun<sup>®</sup>, Melsungen).

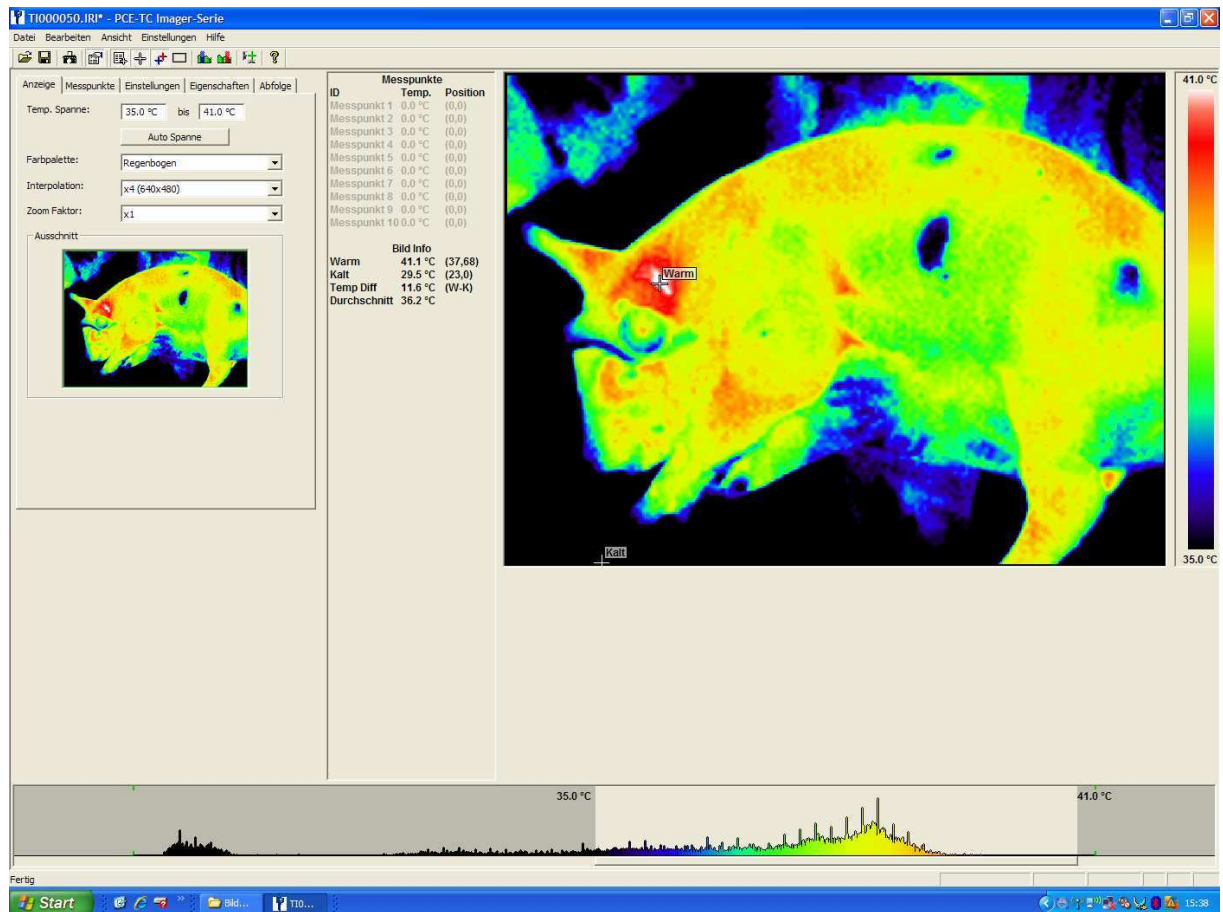
Die Kanülengröße betrug bei allen Altersgruppen und Impfstoffen einheitlich 20G. Lediglich die Kanülenlänge wurde mittels einer aufgesteckten Plastikhülse an die Größe des Tieres bzw. dessen Körpergewicht in Anlehnung an ELICKER (2006) angepasst, siehe Tabelle 2.

**Tabelle 2: Übersicht über die bei den einzelnen Gewichtsklassen verwendeten Kanülengrößen**

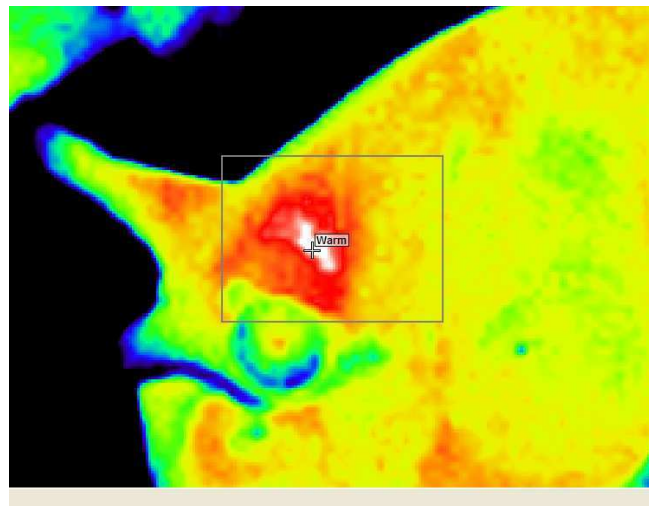
<b>Gewichtsklasse (kg)</b>	<b>Kanüle</b>
bis 10	1,2x20mm
11 bis 25	1,2x25mm
26 bis 50	1,2x30mm
51 bis 100	1,2x35mm

#### 3.3.2 Wärmebildkamera

Zur Anfertigung der Wärmebilder wurde die Wärmebildkamera TC-3 der Firma PCE Instruments<sup>®</sup> verwendet. Die Kamera verfügt über eine Auflösung von 160x120 Pixel bei einer Messgenauigkeit von +/- 2%. Das Gerät misst in einem Temperaturbereich von -10°C bis +250°C mit einer Sensitivität von 0,15°C. Die aufgenommenen Bilder (Thermogramme) wurden auf einer SD-Karte zwischengespeichert und mit der Software PCE-TC Series Imager<sup>®</sup> zur Auswertung bearbeitet und anschließend ausgewertet. Bei der Bearbeitung wurde zuerst der Messbereich auf den zu erwartenden Temperaturbereich beschränkt, um eine möglichst genaue Farbabstufung im Thermogramm zu erhalten und um etwaige mit abgebildete Gegenstände (Aufstallung, Fenster, Wärmelampe der Nachbarbox) von der Auswertung auszuschließen. Dann wurde mit Hilfe einer Programmfunktion der wärmste und der kälteste Punkt im vorgegebenen Auswertungsbereich markiert. Der Wert des wärmsten angezeigten Punktes in diesem Bereich wurde in die Auswertung aufgenommen (Abbildung 1 und 2).



**Abbildung 1: Auswertung eines Thermogrammes mit der Software PCE-TC Imager Serie®,  
Übersichtsansicht des Programmes**



**Abbildung 2: Auswertung eines Thermogrammes mit der Software PCE-TC Imager Serie®,  
Auswertungsfeld und wärmster Punkt an der Injektionsstelle markiert**

### **3.3.3 Messung der Körperinnentemperatur**

Die Messung der Körperinnentemperatur (KT) erfolgte durch eine rektale Temperaturmessung mit Fieberthermometern der Firma Microlife® (Microlife VT 1831 Vet-Temp®, Widnau, Schweiz).

## **3.4 Vorversuch**

### **3.4.1 Gruppeneinteilung**

Auf dem Versuchsbetrieb in Thalhausen wurde die Wärmebildkamera anhand der Impfung von Ferkeln mit drei Impfstoffen und jeweils unterschiedlichen Adjuvantien plus jeweiliger Kontrollgruppe getestet (Tabelle 3). Es wurden die gleichen Impfstoffe eingesetzt, die später im Tierversuch zum Einsatz kommen sollten. Der Vorversuch wurde aus organisatorischen Gründen an drei kurz aufeinander folgenden Tagen durchgeführt, wobei pro Versuchstag je ein Impfstoff mit jeweiliger Kontrollgruppe zum Einsatz kam. Die Anzahl der Tiere verteilte sich je zur Hälfte auf Impf- und Kontrolltiere. Die Kontrolltiere wurden bezüglich des Alters entsprechend den zugehörigen Impftieren ausgewählt. Das Volumen der applizierten isotonischen Kochsalzlösung orientierte sich an der jeweiligen Impfdosis.

Die Auswahl der Tiere erfolgte nach klinischer Untersuchung der Saug- bzw. Absetzferkel am Vortag des Versuchs und entsprechend den Herstellervorgaben bzgl. des Mindestalters der Tiere. Grundvoraussetzung war, dass die Tiere an der geplanten Injektionsstelle caudal des Ohrgrundes noch keine Applikation (Schutzimpfung, Antibiose, Eisenversorgung) erhalten hatten. Für die klinische Untersuchung wurde das Scoresystem von ELICKER (2006) modifiziert (Tabelle 5).

Aus dieser Auswahl wurden die Versuchstiere per Los den jeweiligen Gruppen (A, B, C, D) zugeteilt. Alle Ferkel waren zur Identifikation von Seiten der Versuchsstation mit Ohrmarken mit fortlaufenden Nummern markiert. Am Tag vor Versuchsbeginn wurde den Tieren nach oben genannter Auswahl eine zusätzliche Ohrmarke eingezogen, ebenfalls fortlaufend nummeriert. Dies war erforderlich, da die Ferkel je nach Alter entweder noch nicht von der Sau abgesetzt waren und nicht alle Tiere eines Wurfes als Versuchstiere verwendet werden konnten oder im Flatdeck in größeren Gruppen gehalten wurden.

Die Gruppe A bestand aus 25 Ferkeln im Alter von knapp 3 Wochen, 2 Tiere mussten bei Versuchsbeginn ausgeschlossen werden. Somit wurden 23 Tiere gemäß den Herstellervorgaben mit dem Impfstoff Ingelvac CircoFLEX<sup>®</sup> geimpft.

Die Gruppe B bestand aus 25 Tieren im Alter von knapp über drei Wochen. Die Ferkel wurden entsprechend der Herstellervorgabe mit dem Impfstoff Ingelvac M.hyo<sup>®</sup> geimpft.

Gruppe C umfasste 25 Tiere im Alter von 9 bis 10 Wochen. Den Tieren wurde nach Herstellervorgabe der Impfstoff Ingelvac Flu<sup>®</sup> appliziert.

In der Kontrollgruppe D befanden sich 25 Kontrolltiere (D<sub>A</sub>) für die Gruppe A, von denen ein Tier bei Versuchsbeginn ausgeschlossen wurde, und je 25 Kontrolltiere (D<sub>B</sub> und D<sub>C</sub>) für die Gruppen B und C. Allen Kontrolltieren wurde isotonische Kochsalzlösung appliziert.

Insgesamt befanden sich 73 Impftiere und 74 Kontrolltiere im Vorversuch.

**Tabelle 3: Gruppeneinteilung im Vorversuch**

	<b>Gruppe A</b>	<b>Gruppe B</b>	<b>Gruppe C</b>	<b>Gruppe D</b> (D <sub>A</sub> , D <sub>B</sub> , D <sub>C</sub> )
<b>Impfstoff/ Injektat</b>	Ingelvac CircoFLEX <sup>®</sup>	Ingelvac M.hyo <sup>®</sup>	Ingelvac Flu <sup>®</sup>	Isotonische Natriumchlorid- Lösung 0,9% ad us.vet. B.Braun <sup>®</sup>
<b>Anzahl der Tiere</b>	23	25	25	74
<b>Messzeitpunkte/ Std. nach der Inj.</b>	T 0 bis T 6/ 0, 2, 4, 6, 8, 10 und 24 Std. post injectionem			



### 3.4.2 Versuchsablauf

Am Tag des Versuches fanden die einzelnen Teilschritte wie folgt statt: jedes Tier wurde anfangs einzeln untersucht, dabei waren 3 Parameter von Bedeutung: Körpertemperatur, ungestörtes Allgemeinbefinden gemäß dem entwickelten Score (Tabelle 5) und die lokale Untersuchung bzw. Palpation von Haut und Gewebe an der geplanten Injektionsstelle (Tabelle 6). Danach wurde von dem Areal um die Injektionsstelle eine Aufnahme mit der Wärmebildkamera gemacht, um den Zustand vor der Applikation als Ausgangswert zu dokumentieren. Anschließend erfolgte nach trockener Reinigung die Injektion des Impfstoffes bzw. der Kochsalzlösung mit steriler Einmalkanüle und –spritze.

Im Folgenden wurden im Intervall von 2 Stunden bei jedem Versuchstier oben genannte drei Parameter überprüft und dokumentiert und eine Aufnahme mit der Wärmebildkamera gemacht. Dies geschah am ersten Versuchstag fünf Mal (nach 2, 4, 6, 8 und 10 Stunden p. inj.) und am zweiten Versuchstag ein Mal, 24 Stunden nach der Applikation am Vortag (Tabelle 4).

Vor jedem Messdurchgang bzw. nach einem Stallwechsel war es notwendig, den Grundwert für die Umgebungstemperatur in der Wärmebildkamera, auf dem alle Messungen basieren, neu einzustellen. Außerdem mussten alle Aufnahmen immer im gleichen Winkel und Abstand zum Tier gemacht werden.

Um Verfälschungen der lokalen Wärmeabstrahlung zu vermeiden, wurden 2 Stunden vor Versuchsbeginn sämtliche künstlichen Wärmequellen abgeschaltet.

**Tabelle 4: zeitliche Abfolge und beurteilte Parameter bei den einzelnen Messzeitpunkten**

Messzeitpunkt	T 0	T 1	T 2	T 3	T 4	T 5	T 6
<b>Stunden p.injectionem</b>	0	2	4	6	8	10	24
<b>beurteilte Parameter, Tätigkeit</b>	- Score Allgemeinbefinden - Wärmebild - Score lokale Gewebepalpation - Messung der Körpertemperatur						
	- Impfung						

### 3.4.3 Versuchsparameter

Während der Durchführung des Vorversuches wurden insgesamt 4 verschiedene Parameter erfasst.

Der erste Parameter ist die lokale Wärmeentwicklung, die durch die Aufnahmen mit der Wärmebildkamera (Thermogramm) sichtbar gemacht und dokumentiert wurde.

Der zweite Parameter ist die parallel zum Thermogramm erfolgte Messung der Körperinnentemperatur.

Der dritte Parameter ist die Beurteilung und Dokumentation des Allgemeinbefindens mittels Score (Tabelle 5).

Der vierte Parameter ist die lokale Gewebepalpation zur Beurteilung von Haut und Gewebe an der Injektionsstelle mittels Score (Tabelle 6).

Für den dritten und vierten Parameter wurden zwei Scoresysteme, „Score Allgemeinbefinden“ und „Score lokale Gewebepalpation“ entwickelt bzw. nach ELICKER (2006) modifiziert.

**Tabelle 5: Score Allgemeinbefinden Vor- und Hauptversuch**

Score	Befund
0	keine Störung des Allgemeinbefindens
1	geringgradige Störung des Allgemeinbefindens, Tier liegt vermehrt
2	mittelgradige Störung des Allgemeinbefindens, Tier liegt vermehrt, sondert sich ab, verringerte Futteraufnahme
3	hochgradige Störung des Allgemeinbefindens, Abbruch des Versuches, symptomatische Behandlung

Der Score „lokale Gewebepalpation“ ist in 4 Beurteilungsstufen unterteilt. Bei Score „0“ waren Veränderungen weder sichtbar noch palpierbar, bei Score „1“ war eine lokale Wärmeentwicklung bei der Palpation fühlbar. Wenn zusätzlich zur Wärmebildung eine Schwellung an der Injektionsstelle bemerkt wurde, wurde das Tier mit Score „2“ beurteilt. Trat zusätzlich zu den zwei Kriterien Wärme bzw. Rötung und Schwellung noch ein Schmerzempfinden auf, so erfolgte eine Bewertung mit Score „3“.

**Tabelle 6: Score lokale Gewebepalpation Vorversuch**

Score	Befund
0	keine Veränderungen, Gewebe normalanatomisch
1	ggrd. Veränderungen (Wärme)
2	mgrd. Veränderungen (Wärme/ Rötung, Schwellung)
3	hgrd. Veränderungen (Wärme/ Rötung, Schwellung, Schmerz)

### 3.5 Statistisches Gutachten Hauptversuch

Anhand der statistischen Auswertung der Daten des Vorversuches wurden die erforderlichen Tierzahlen für die Durchführung des Hauptversuches berechnet. Dies erfolgte am Institut für Statistik der LMU München. Dieses Gutachten, das eine Mindestanzahl von 60 Versuchstieren enthielt, um eine statistisch valide Auswertung vornehmen zu können, bildete die Grundlage für die Anzeige des Tierversuchsvorhabens.

### 3.6 Hauptversuch

#### 3.6.1 Anzeige des Tierversuchsvorhabens

Der Tierversuch wurde gemäß § 8 Abs. 1 des Tierschutzgesetzes bei der Regierung von Oberbayern angezeigt und wird unter dem Aktenzeichen 55.2-1-54-2531-103-10 geführt.

#### 3.6.2 Gruppeneinteilung

Für die Untersuchung der Lokalreaktion von Adjuvantien musste jede zusätzliche Applikation im Bereich der Injektionsstelle vermieden werden. Daher wurden alle 60 Tiere im Hauptversuch von der Versuchsstation Thalhausen, auf der auch der Vorversuch durchgeführt wurde, gekauft. Dort war es möglich, die Tiere unmittelbar nach der Geburt zu markieren und sicherzustellen, dass routinemäßige und therapeutische Injektionen (Eisenversorgung, Antibiose, Analgesie bei der Kastration) bis zum Versuchsbeginn nicht in die Halsmuskulatur erfolgten. Alle parenteral verabreichten Medikamente und deren Applikationsart und -ort wurden zudem dokumentiert. Die Einstellung in der Klinik für Schweine in Oberschleißheim erfolgte 4 Tage vor Versuchsbeginn.

Es wurden ausschließlich klinisch gesunde Tiere in den Versuch aufgenommen. Dabei wurden sowohl weibliche als auch männliche Tiere unterschiedlicher Altersstufen ausgewählt. Einige der Tiere waren zu diesem Zeitpunkt noch nicht von der Muttersau abgesetzt. Das Alter wurde dabei so gewählt, dass der vom Hersteller vorgegebene Impfzeitpunkt eingehalten werden konnte.

Der Hauptversuch wurde aus organisatorischen Gründen in zwei kurz aufeinander folgenden Teilen durchgeführt. Es wurden zwei identisch aufgebaute Hauptgruppen (1 und 2) gebildet, die aus jeweils 30 Tieren bestanden. Beide Hauptgruppen unterteilten sich entsprechend dem Vorversuch in die 4 Untergruppen A, B, C und D. Die Aufteilung in zwei Hauptgruppen war erforderlich, da eine Hälfte der Versuchstiere bereits nach 24 Stunden euthanasiert werden sollte (1A, 1B, 1C, 1D), um histopathologisch akute Reaktionen nachweisen zu können. Ein weiterer Grund hierfür war, dass sich in den Vorversuchen zeigte, dass die gemessene Lokaltemperatur an der Injektionsstelle in den ersten 24 Stunden die größten Schwankungen aufzeigt.

Die Versuchstiere der zweiten Hauptgruppe (2A, 2B, 2C, 2D) wurden am siebten Tag nach Applikation des Impfstoffes euthanasiert.

In beiden Hauptgruppen waren alle drei Impfstoffe mit jeweiliger Kontrollgruppe vertreten, der Gruppenaufbau sowie die Versuchsdurchführung war in allen Parametern identisch mit dem Vorversuch. In den ersten 24 Stunden des Versuches bestanden keine Unterschiede zwischen den Hauptgruppen.

Eine Impfgruppe (A, B, C) bestand in Hauptgruppe 1 und 2 aus jeweils 8 Tieren, die Kontrollgruppe D bestand aus je 6 Tieren, entsprechend 2 Kontrolltieren pro Impfgruppe (D<sub>A</sub>, D<sub>B</sub>, D<sub>C</sub>), siehe Tabelle 7.

**Tabelle 7: Gruppeneinteilung Hauptversuch**

	<b>Hauptgruppe 1</b>				<b>Hauptgruppe 2</b>			
	<b>Gruppe A</b>	<b>Gruppe B</b>	<b>Gruppe C</b>	<b>Gruppe D</b> (D <sub>A</sub> , D <sub>B</sub> , D <sub>C</sub> )	<b>Gruppe A</b>	<b>Gruppe B</b>	<b>Gruppe C</b>	<b>Gruppe D</b> (D <sub>A</sub> , D <sub>B</sub> , D <sub>C</sub> )
<b>Impfstoff/ Injektat</b>	Ingelvac CircoFLEX®	Ingelvac M.hyo®	Ingelvac Flu®	NaCl 0.9% ad us.vet. B.Braun®	Ingelvac CircoFLEX®	Ingelvac M.hyo®	Ingelvac Flu®	NaCl 0.9% ad us.vet. B.Braun®
<b>Anzahl der Tiere</b>	8	8	8	6	8	8	8	6
<b>Messzeit punkte/ Std. nach der Inj.</b>	T 0 bis T 8  0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 24 Std. post injectionem				T 0 bis T 14  0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168 Std. post injectionem			
<b>Euthana- sie</b>	24 Stunden nach Versuchsbeginn/ Injektion				168 Stunden (7 Tage) nach Versuchsbeginn/ Injektion			

### 3.6.3 Versuchsablauf

Etwa eine Stunde vor Versuchsbeginn wurden alle Fremdwärmequellen abgeschaltet, die Tiere wurden einzeln klinisch untersucht und mit einem Viehkennzeichenstift entsprechend ihrer fortlaufenden Ohrenmarke zur schnelleren Identifizierung am Rücken gekennzeichnet. Mit einem wasserfesten Stift wurde bei allen Tieren die geplante Injektionsstelle nach trockener Reinigung an der linken Halsseite markiert. Dies sollte vor allem für eine leichtere Auffindbarkeit der Injektionsstelle in der Pathologie sorgen.

Nach einer kurzen Ruhepause wurden die Tiere von einer Hilfsperson der Reihe nach kurz fixiert. Nach einer Beurteilung des Allgemeinbefindens anhand des entwickelten Scoresystems wurde von der geplanten Injektionsstelle ein Thermogramm angefertigt und das Gewebe an dieser Stelle palpiert, parallel wurde von der Hilfsperson rektal die Körperinnentemperatur gemessen. Die Befunde und die Nummer des Wärmebildes auf der Speicherkarte wurden sofort dokumentiert. Für jedes Tier stand eine separate Befundliste zur Verfügung. Dann erfolgte entsprechend der Versuchsnummer des Tieres die Applikation eines Impfstoffes bzw. die Applikation von isotonischer Kochsalzlösung. Dies geschah doppelt verblindet, da

aufgrund der fortlaufenden Nummer der Versuchstiere keine Gruppenzugehörigkeit ersichtlich war und die Einteilung der Tiere in die jeweiligen Untergruppen per Los erfolgte. Die zu applizierenden Mittel wurden vor Versuchsbeginn für jedes der Tiere einzeln in einer neuen, sterilen Spritze und Kanüle aufgezogen und entsprechend der Nummer des jeweiligen Tieres, dem das Mittel appliziert werden sollte, beschriftet. So wurde beispielsweise dem Ferkel Nummer 10 der Inhalt von Spritze Nummer 10 appliziert. Dieser Vorgang wurde bei allen Versuchstieren in der gleichen Reihenfolge durchgeführt.

Am Tag des Versuchsbeginns wurden die vier Parameter Wärmebild, lokale Gewebepalpation, Körpertemperatur und Allgemeinbefinden einmal unmittelbar vor der Injektion und anschließend sieben Mal im Abstand von 2 Stunden, d.h. über einen Zeitraum von 14 Stunden, gemessen. Bei den Tieren der Hauptgruppe 1 erfolgte dies am zweiten Versuchstag, genau 24 Stunden nach der Injektion am Vortag, noch ein letztes Mal. Diese Tiere wurden im Anschluss euthanasiert. Bei den Tieren der Hauptgruppe 2 wiederholten sich die Messungen einmal täglich im 24-stündigen Intervall bis zur Euthanasie am siebten Tag nach Versuchsbeginn. Bei beiden Hauptgruppen wurde ein Mal täglich nach der Palpation der Injektionsstelle die Markierung mit einem Marker nachgezogen.

Die zeitliche Abfolge der Tätigkeiten bei den einzelnen Messzeitpunkten sind für die Hauptgruppe 1 in Tabelle 8 und für die Hauptgruppe 2 in Tabelle 9 dargestellt.

Die Euthanasie der Tiere erfolgte intravenös mit dem Wirkstoff Pentobarbital (Release<sup>®</sup>, WDT, Garbsen). Die Dosierung orientierte sich an den Herstellervorgaben und am Gewicht der Tiere.

**Tabelle 8: zeitliche Abfolge und beurteilte Parameter bei den einzelnen Messzeitpunkten der Hauptgruppe 1**

Messzeitpunkt	T 0	T 1	T 2	T 3	T 4	T 5	T 6	T 7	T 8
<b>Stunden</b> <b>p.injectionem</b>	0	2	4	6	8	10	12	14	24
<b>beurteilte</b> <b>Parameter,</b> <b>Tätigkeit</b>	- Score Allgemeinbefinden - Wärmebild - Score lokale Gewebepalpation - Körperinnentemperatur								- Euthanasie
	- Impfung								

**Tabelle 9: zeitliche Abfolge und beurteilte Parameter bei den einzelnen Messzeitpunkten der Hauptgruppe 2**

Messzeitpunkt	T 0	T 1	T 2	T 3	T 4	T 5	T 6	T 7	T 8
<b>Stunden</b> <b>p.injectionem</b>	0	2	4	6	8	10	12	14	24
<b>beurteilte</b> <b>Parameter/</b> <b>Tätigkeit</b>	- Score Allgemeinbefinden - Wärmebild - Score lokale Gewebepalpation - Körperinnentemperatur								
	- Impfung								

Messzeitpunkt	T 9	T 10	T 11	T 12	T 13	T 14
<b>Stunden</b> <b>p.injectionem</b>	48	72	96	120	144	168
<b>beurteilte</b> <b>Parameter/</b> <b>Tätigkeit</b>	- Score Allgemeinbefinden - Wärmebild - Score lokale Gewebepalpation - Körperinnentemperatur					- Euthanasie

### 3.6.4 Versuchsparameter

Während der Durchführung des Hauptversuches wurden insgesamt 4 verschiedene Parameter in Anlehnung an den Vorversuch erfasst. Im Gegensatz zum Vorversuch wurden die Tiere aus dem Hauptversuch am Ende euthanasiert und anhand weiterer Parameter untersucht (Punkt 3.6.5.3).

Die ersten drei Parameter, Wärmebild, Körperinnentemperatur und Score Allgemeinbefinden wurden identisch zum Vorversuch eingesetzt und beurteilt (Punkt 3.4.3).

Der vierte Parameter, die lokale Gewebepalpation zur Beurteilung von Haut und Gewebe an der Injektionsstelle, wurde für den Hauptversuch überarbeitet. In diesem Score wurden die Beurteilungskriterien Schwellung und Rötung getrennt beurteilt und dokumentiert.

Der Score unterteilt sich in 5 Abstufungen von 0 bis 4, wobei jede Abstufung zusätzlich durch ein „R“ für den Parameter Rötung gekennzeichnet werden konnte (Tabelle 10).

**Tabelle 10: Score lokale Gewebepalpation Hauptversuch**

Score	Befund
0	keine Veränderungen, normalanatomisch
1	geringgradige Veränderungen (<5mm)
1R	geringgradige Veränderungen (<5mm), Rötung deutlich erkennbar
2	mittelgradige Veränderungen (6-15mm)
2R	mittelgradige Veränderungen (6-15mm), Rötung deutlich erkennbar
3	hochgradige Veränderungen (16-25mm)
3R	hochgradige Veränderungen (16-25mm), Rötung deutlich erkennbar
4	höchstgradige Veränderungen (>25mm)
4R	höchstgradige Veränderungen (>25mm), Rötung deutlich erkennbar



### **3.6.5 Pathologie**

#### **3.6.5.1 Entnahme der Gewebeproben**

Die Versuchstiere wurden unmittelbar nach der Euthanasie zur Sektion in das Institut für Tierpathologie der Universität München gebracht. Dort erfolgte innerhalb von zwei Stunden post mortem die Sektion der Tiere.

Die Tiere wurden zunächst in Brustlage verbracht. Anschließend wurde ausgehend von der Markierung der Injektionsstelle an der linken Halsseite eine je nach Tiergröße etwa 5-10cm breite Gewebeprobe aus der Hals-/ Nackenmuskulatur entnommen, die sich cranial bis zum Occipitalgelenk und in der Tiefe bis zur Wirbelsäule erstreckte. Das caudale Ende wurde so gewählt, dass sich die Einstichstelle in der Mitte der Gewebeprobe befand. Das entnommene Gewebe wurde direkt nach der Entnahme in Behälter mit 4%-iger Formaldehydlösung überführt (Abbildungen 3 bis 5).

Im Anschluss an die Entnahme der Gewebeproben im Bereich der Injektionsstelle wurde bei allen 60 Versuchstieren eine vollständige Sektion durchgeführt, um den Gesundheitszustand zu dokumentieren. Während der Sektion wurden dazu Organproben von Leber, Milz, Lunge und Niere zur histopathologischen Untersuchung entnommen.



**Abbildung 3: Versuchstier vor der Entnahme der Gewebeprobe in der Pathologie**



**Abbildung 4: Versuchstier während der Entnahme der Gewebeprobe in der Pathologie**



**Abbildung 5: vollständig entnommene Gewebeprobe**

### **3.6.5.2 Bearbeitung der Proben zur histopathologischen Untersuchung**

Nach einer Fixationszeit von etwa zwei Tagen wurden die Proben im Institut für Tierpathologie weiterbearbeitet. Aus dem vorfixierten Nackengewebe wurde eine etwa 2x2 cm im Durchmesser große quaderförmige Probe entnommen. Dies wurde senkrecht zur Markierung bis zum Exzisionsrand in der Tiefe durchgeführt, um eine möglichst exakte Darstellung des Injektionskanals und Applikationsortes zu gewährleisten. Vor der Weiterbearbeitung wurde die craniale Seite der Probe mit Tusche markiert, um später die Lage des Gewebes im Tier nachvollziehen zu können und ein Abweichen des Entzündungsgeschehens von der Senkrechten nachpräparieren zu können.

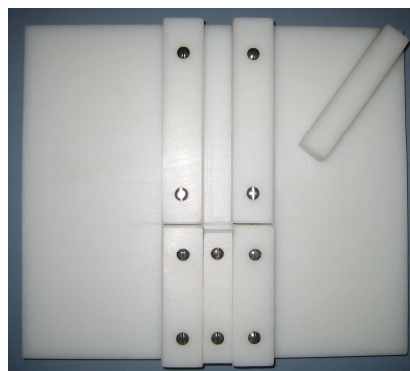
Der gewonnene Gewebeblock wurde mit Hilfe einer speziell zu diesem Zweck konzipierten Schneidevorrichtung zugeschnitten (Abbildung 6). Dabei wurde an der äußeren, behaarten Seite begonnen, 3mm dicke Gewebescheiben parallel zur Haut zu schneiden. Abwechselnd wurden die Gewebescheiben jeweils zur Kunststoff- bzw. Paraffineinbettung in Gewebekapseln überführt und für weitere 24 Stunden in Formalin fixiert. Dabei wurden die Schnittebenen so positioniert, dass die selbe Region in beiden Einbettungsvarianten dargestellt wurde.

Dieses Vorgehen beim Zuschneiden der Proben wurde gewählt, um Rückschlüsse auf die Lokalisation bzw. die Tiefe der Gewebescheibe und damit von Entzündungsreaktionen in vivo ziehen zu können (Tabelle 11).

Die während der Sektion zusätzlich genommenen Organproben wurden ebenfalls für die histologische Untersuchung in Paraffin eingebettet.

Zur weiteren histologischen Untersuchung wurden überwiegend die in Paraffin eingebetteten Proben verwendet, die Kunststoffblöcke wurden aufgrund der besseren Darstellung der Strukturen bei Bedarf zusätzlich zur Auswertung herangezogen.

Von den in Paraffin eingebetteten Präparaten wurden anschließend Schnitte von 5µm Dicke angefertigt, welche bis zur Färbung im Brutschrank zwischengelagert wurden. Pro Paraffinblock wurden sowohl eine Hämatoxylin-Eosin (HE) als auch eine Giemsa (G) Färbung nach Standardverfahren durchgeführt.



**Abbildung 6: Schneidevorrichtung zur Bearbeitung der Gewebelöcke**

**Tabelle 11: Zusammenhang zwischen Schnittebene und Lokalisation bzw. Tiefe der Probe in vivo**

Ebene	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Tiefe (mm)	3	9	15	21	27	33	39	45	51	57

### 3.6.5.3 Histopathologie

Alle Proben beider Färbungen eines Tieres wurden nacheinander, beginnend mit Schnittebene 1, am Lichtmikroskop durchgemustert, wobei in jeder Schnittebene der Grad der Entzündung notiert wurde.

Die Durchmusterung der Proben bzw. die Vorauswahl erfolgte anhand eines Scoresystems mit 5 Abstufungen, wobei der Scorepunkt „-“ bedeutete, dass keine Entzündung in der Probe nachgewiesen werden konnte. Der fünfte, somit höchste Scorepunkt „++++“ bedeutete, dass in der Gewebeprobe eine hochgradige Entzündung mit Gewebeuntergang vorhanden war (Tabelle 12).

Zur weiteren histopathologischen Beurteilung wurde je Tier die Schnittebene mit höchstem Entzündungsgrad ausgewählt.

**Tabelle 12: Scoresystem zur Vorauswahl der Proben zur histopathologischen Untersuchung**

Score	Befund
-	keine Entzündung vorhanden
+	ggrd. Entzündung (vereinzelt Entzündungszellen auffindbar)
++	mgrd. Entzündung (deutlich vermehrte Anzahl an Entzündungszellen)
+++	hgrd. Entzündung (Entzündungszellen überwiegen, beginnende Nekrose, Muskelfasern pathologisch verändert)
++++	hgrd. Entzündung mit Gewebeuntergang (Entzündungszellen überwiegen, hochgradige Nekrose, Muskelfasern pathologisch verändert)

Die Probe mit dem höchsten Grad an Entzündung wurde in der HE und Giemsa Färbung genau nach unten stehender Liste und dazugehörigem Score ausgewertet. Bei jeder Probe wurden 12 im Vorfeld festgelegte Parameter beurteilt. Bei den Parametern neutrophile Granulozyten, Monozyten und Macrophagen, mehrkernige Riesenzellen, Lymphozyten, Plasmazellen sowie beim Parameter Nekrose war der Beurteilungs-Score in drei Stufen unterteilt. Stufe „0“ bedeutet, dass der jeweilige Parameter nicht bzw. nur geringgradig vorhanden war, bei Stufe „2“ war der Parameter in hochgradig nachweisbar (Tabelle 13). Dabei ist diese Bewertung unabhängig vom gesamten Grad der Entzündung, da die Erhebung nur beinhaltet, welchen Anteil die Parameter an dem jeweiligen Entzündungsgeschehen haben. Bei

den Parametern Plasmaerguss, Fibrin, Muskelfaserpathologie, Fremdmaterial und Einblutung war der Score nur in 2 Stufen unterteilt, „0“ für nicht vorhanden und „1“ für vorhanden (Tabelle 14).

In den Tabellen 13 und 14 ist die Beurteilung jeweils bezogen auf ihren Anteil innerhalb der Entzündung.

**Tabelle 13: Score zur Beurteilung von neutrophilen Granulozyten, Monozyten und Macrophagen, mehrkernigen Riesenzellen, Lymphozyten und Plasmazellen sowie des Parameters Nekrose**

Score	Befund
0	nicht bzw. geringgradig vorhanden
1	mittelgradig vorhanden
2	hochgradig vorhanden

**Tabelle 14: Score zur Beurteilung der Parameter Plasmaerguss, Fibrin, Muskelfaserpathologie, Fremdmaterial und Einblutung**

Score	Befund
0	nicht vorhanden
1	vorhanden

### 3.6.6 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der gesammelten Daten erfolgte an der Klinik für Schweine in Oberschleißheim.

Es wurde das Computerprogramm SPSS® in der Version 18.0 verwendet. Für die vergleichende Statistik der Impf- mit der Kontrollgruppe wurde eine Anova-Analyse (Post-Hoc-Test) durchgeführt. Für den Vergleich der Impfgruppen mit der entsprechenden Kontrolluntergruppe und der gesamten Kontrollgruppe wurde ein T-Test mit Bonferroni Korrektur gemacht. Der T-Test wurde auch zur statistischen Auswertung der Werte der einzelnen Messzeitpunkte einer Gruppe untereinander verwendet.



## 4. Ergebnisse

### 4.1 Vorversuch

Im Vorversuch auf der Versuchsstation Thalhausen wurden bei den 147 Tieren die Parameter Wärmebildkamera, Körperinnentemperatur und die beiden Scores für Allgemeinbefinden und lokale Gewebepalpation beurteilt und ausgewertet.

#### 4.1.1 Ergebnis Parameter Wärmebildkamera

Bei den Schweinen aus der **Gruppe A** (Ingelvac CircoFLEX®) lag die vor Versuchsbeginn gemessene Lokaltemperatur im Mittel bei 38,7°C. Der höchste Wert wurde nach 4 Stunden (T 2) mit durchschnittlich 39,2°C gemessen, nach 10 Std. war der Ausgangswert erreicht. Am zweiten Versuchstag lag die gemittelte Temperatur 1,8°C unter dem Ausgangswert (T 0) vom Vortag. Im Vergleich mit den Werten der gesamten Kontrollgruppe (D) ergaben sich bei T 0 und T 6 signifikante Unterschiede, im Vergleich mit der zur Gruppe A gehörigen Kontrolluntergruppe D<sub>A</sub> ergaben sich über den gesamten Versuchszeitraum keine signifikanten Unterschiede.

Bei der **Gruppe B** (Ingelvac M.hyo®) steigerte sich die Temperatur an der Injektionsstelle im Durchschnitt kontinuierlich von 37,2°C auf 39,4°C nach 10 Stunden. Am letzten Messzeitpunkt 24 Std. post injectionem lag die Temperatur im Mittel 0,3°C über dem Ausgangswert. An den Messzeitpunkten T 0 und T 2 waren bei Gruppe B signifikante Unterschiede zur Kontrollgruppe D vorhanden, zur Gruppe D<sub>B</sub> waren keine Signifikanzen vorhanden.

Bei den Tieren aus der **Gruppe C** (Ingelvac Flu®) stieg die maximale lokale Temperatur innerhalb von vier Stunden ab Versuchsbeginn im Mittelwert von 38,6°C auf über 40°C, zwei Stunden später auf über 41°C. Dieser Wert blieb bis zur letzten Messung am ersten Versuchstag (T 7) konstant. Der 24-Stunden Wert (T 8) lag mit durchschnittlich 38,9°C über dem Ausgangswert. Signifikante Unterschiede zur Kontrollgruppe D waren an den Messzeitpunkten T 1 bis T 6 vorhanden, zur Kontrolluntergruppe D<sub>C</sub> von T 2 bis T 4.

Bei den Kontrolltieren der **Gruppe D** (isotonische Kochsalzlösung) erhöhte sich die lokale Temperatur kontinuierlich vom mittleren Ausgangswert (T 0) um 1,3°C. Am zweiten Versuchstag war die Temperatur unter den Ausgangswert abgesunken.

Die Mittelwerte der jeweiligen Gruppe bei den einzelnen Messzeitpunkten sowie die dazugehörigen Standardabweichungen sind in Tabelle 15 und in den Abbildungen 7 bis 10 dargestellt.

Die p-Werte des Parameters Wärmebild sind in den Tabellen 16 bis 18 zusammengefasst. Tabelle 16 zeigt die p-Werte des Vergleichs der drei Impfgruppen und der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt der jeweiligen Messung. In Tabelle 17 sind die p-Werte für die Impfgruppen in Bezug auf die gesamte Kontrollgruppe (D) und in Bezug auf die dazugehörige Kontrolluntergruppe ( $D_A$ ,  $D_B$ ,  $D_C$ ) aufgeführt. In Tabelle 18 sind für jede Gruppe die p-Werte dargestellt, die sich aus der vergleichenden Berechnung zweier aufeinander folgender Messzeitpunkte und eines Messzeitpunktes in Bezug auf den Ausgangswert bei T 0 ergeben.

**Tabelle 15: Temperaturmittelwerte und Standardabweichungen in °C bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 6, Parameter Wärmebild des Vorversuches**

Messzeitpunkt (MZP)		T 0	T 1	T 2	T 3	T 4	T 5	T 6
Stunden post injectionem		0	2	4	6	8	10	24
<b>Gruppe A</b>	MW	38,7	39,0	39,2	38,8	39,0	38,7	36,9
	SD	0,4	0,5	0,9	0,6	0,7	0,8	0,3
<b>Gruppe B</b>	MW	37,2	37,9	38,3	38,9	38,8	39,4	38,0
	SD	0,8	1,1	0,8	0,9	0,8	1,0	0,9
<b>Gruppe C</b>	MW	38,6	39,2	40,3	41,1	41,2	41,2	38,9
	SD	0,6	0,7	1,0	0,6	0,6	0,9	0,6
<b>Gruppe D</b>	MW	38,1	38,6	38,9	39,0	39,1	39,4	37,9
	SD	0,8	1,1	1,2	1,0	1,0	1,2	1,1



**Tabelle 16: p-Werte des Vergleiches der Gruppen A, B, C und D bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 6, Parameter Wärmebild des Vorversuches;  $p \leq 0,05$**

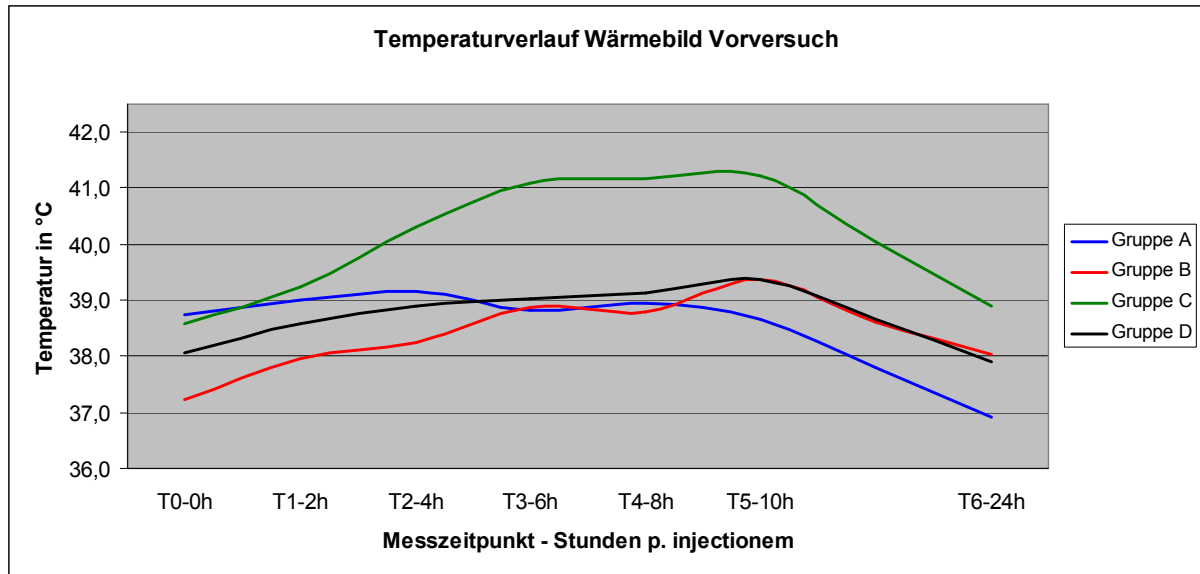
MZP	T 0				T 1				T 2			
Gruppe	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
A	-	0,000	0,873	0,001	-	0,001	0,834	0,261	-	0,017	0,000	0,684
B	0,000	-	0,000	0,000	0,001	-	0,000	0,030	0,170	-	0,000	0,52
C	0,873	0,000	-	0,016	0,834	0,000	-	0,210	0,002	0,000	-	0,000
D	0,001	0,000	0,016	-	0,261	0,030	0,021	-	0,684	0,052	0,000	-
MZP	T 3				T 4				T 5			
Gruppe	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
A	-	0,997	0,000	0,782	-	0,911	0,000	0,826	-	0,119	0,000	0,038
B	0,997	-	0,000	0,885	0,911	-	0,000	0,321	0,119	-	0,000	1,000
C	0,000	0,000	-	0,000	0,000	0,000	-	0,000	0,000	0,000	-	0,000
D	0,782	0,885	0,000	-	0,826	0,321	0,000	-	0,038	1,000	0,000	-
MZP	T 6											
Gruppe	A	B	C	D								
A	-	0,000	0,000	0,000								
B	0,000	-	0,006	0,943								
C	0,000	0,006	-	0,000								
D	0,000	0,943	0,000	-								

**Tabelle 17: p-Werte des Vergleiches der Gruppen A, B und C mit der Kontrollgruppe D und den dazu gehörigen Kontrolluntergruppen D<sub>A</sub>, D<sub>B</sub> und D<sub>C</sub> bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 6, Parameter Wärmebild des Vorversuches;  $p \leq 0,017$**

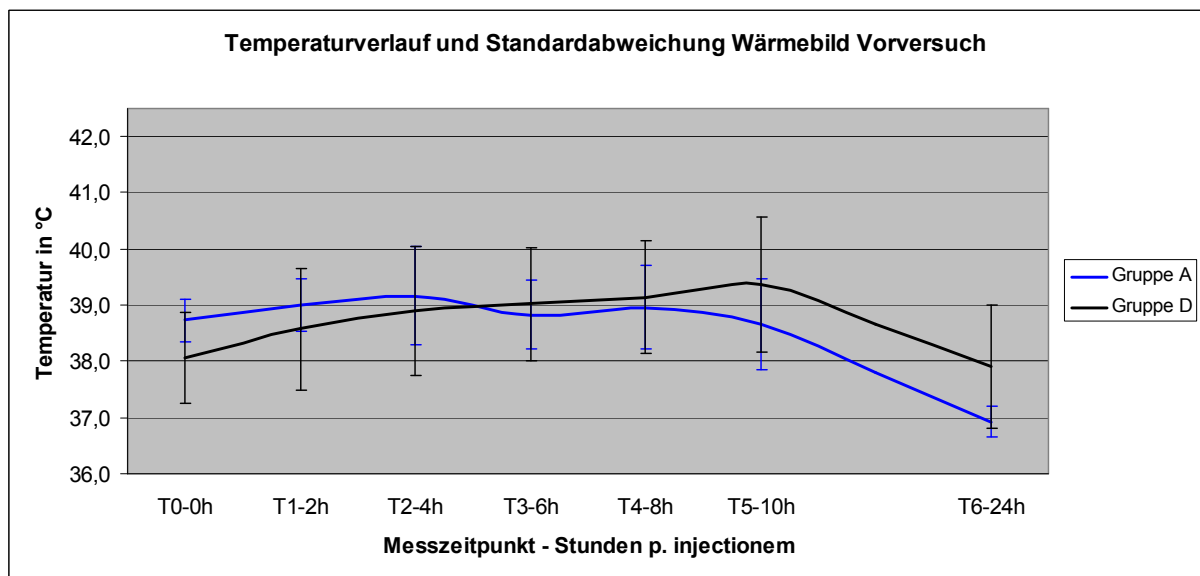
MZP	T 0	T 1	T 2	T 3	T 4	T 5	T 6
Gruppe A - D	0,000	0,073	0,232	0,372	0,365	0,012	0,000
Gruppe A - D <sub>A</sub>	0,178	0,953	0,596	0,322	0,966	0,523	0,095
Gruppe B - D	0,000	0,021	0,014	0,496	0,118	0,995	0,603
Gruppe B - D <sub>B</sub>	0,914	0,627	0,701	0,540	0,346	0,157	0,263
Gruppe C - D	0,005	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Gruppe C - D <sub>C</sub>	0,437	0,216	0,011	0,000	0,000	0,061	0,906

**Tabelle 18: p-Werte des Vergleiches der einzelnen Messzeitpunkte mit dem Ausgangswert und zwischen zwei aufeinander folgenden Messzeitpunkten, Messzeitpunkte T 0 bis T 6, Gruppen A, B, C, D, D<sub>A</sub>, D<sub>B</sub> und D<sub>C</sub>, Parameter Wärmebild des Vorversuches;  $p \leq 0,05$**

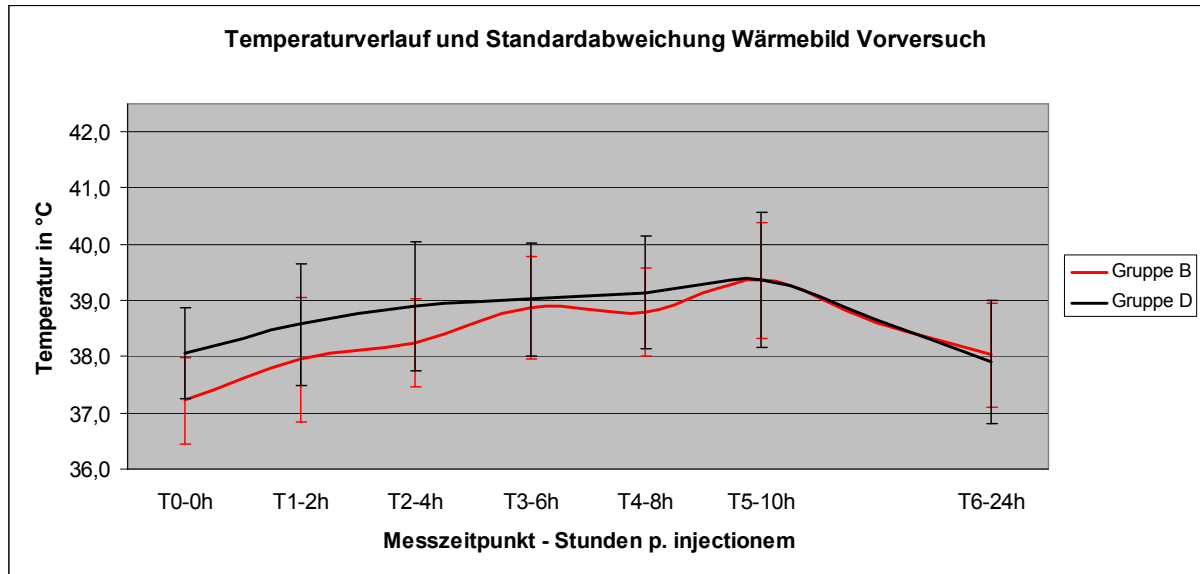
	Messzeitpunkte	p-Werte	Messzeitpunkte	p-Werte
<b>Gruppe A</b>				
	T 0 – T 1	<b>0,009</b>		
	T 0 – T 2	<b>0,008</b>	T 1 – T 2	0,247
	T 0 – T 3	0,378	T 2 – T 3	<b>0,019</b>
	T 0 – T 4	0,131	T 3 – T 4	0,337
	T 0 – T 5	0,674	T 4 – T 5	<b>0,014</b>
	T 0 – T 6	<b>0,000</b>	T 5 – T 6	<b>0,000</b>
<b>Gruppe B</b>				
	T 0 – T 1	<b>0,000</b>		
	T 0 – T 2	<b>0,000</b>	T 1 – T 2	0,157
	T 0 – T 3	<b>0,000</b>	T 2 – T 3	<b>0,000</b>
	T 0 – T 4	<b>0,000</b>	T 3 – T 4	0,660
	T 0 – T 5	<b>0,000</b>	T 4 – T 5	<b>0,003</b>
	T 0 – T 6	<b>0,000</b>	T 5 – T 6	<b>0,000</b>
<b>Gruppe C</b>				
	T 0 – T 1	<b>0,000</b>		
	T 0 – T 2	<b>0,000</b>	T 1 – T 2	<b>0,000</b>
	T 0 – T 3	<b>0,000</b>	T 2 – T 3	<b>0,000</b>
	T 0 – T 4	<b>0,000</b>	T 3 – T 4	0,480
	T 0 – T 5	<b>0,000</b>	T 4 – T 5	0,680
	T 0 – T 6	0,52	T 5 – T 6	<b>0,000</b>
<b>Gruppe D</b>				
	T 0 – T 1	<b>0,000</b>		
	T 0 – T 2	<b>0,000</b>	T 1 – T 2	<b>0,000</b>
	T 0 – T 3	<b>0,000</b>	T 2 – T 3	0,156
	T 0 – T 4	<b>0,000</b>	T 3 – T 4	0,199
	T 0 – T 5	<b>0,000</b>	T 4 – T 5	<b>0,016</b>
	T 0 – T 6	0,258	T 5 – T 6	<b>0,000</b>
<b>Gruppe D<sub>A</sub></b>				
	T 0 – T 1	<b>0,005</b>		
	T 0 – T 2	<b>0,022</b>	T 1 – T 2	0,788
	T 0 – T 3	0,654	T 2 – T 3	<b>0,007</b>
	T 0 – T 4	<b>0,011</b>	T 3 – T 4	<b>0,001</b>
	T 0 – T 5	0,105	T 4 – T 5	0,072
	T 0 – T 6	<b>0,000</b>	T 5 – T 6	<b>0,000</b>
<b>Gruppe D<sub>B</sub></b>				
	T 0 – T 1	<b>0,004</b>		
	T 0 – T 2	<b>0,000</b>	T 1 – T 2	<b>0,035</b>
	T 0 – T 3	<b>0,000</b>	T 2 – T 3	<b>0,004</b>
	T 0 – T 4	<b>0,000</b>	T 3 – T 4	0,496
	T 0 – T 5	<b>0,000</b>	T 4 – T 5	<b>0,038</b>
	T 0 – T 6	<b>0,049</b>	T 5 – T 6	<b>0,000</b>
<b>Gruppe D<sub>C</sub></b>				
	T 0 – T 1	<b>0,004</b>		
	T 0 – T 2	<b>0,000</b>	T 1 – T 2	<b>0,000</b>
	T 0 – T 3	<b>0,000</b>	T 2 – T 3	0,078
	T 0 – T 4	<b>0,000</b>	T 3 – T 4	0,295
	T 0 – T 5	<b>0,000</b>	T 4 – T 5	<b>0,020</b>
	T 0 – T 6	<b>0,013</b>	T 5 – T 6	<b>0,000</b>



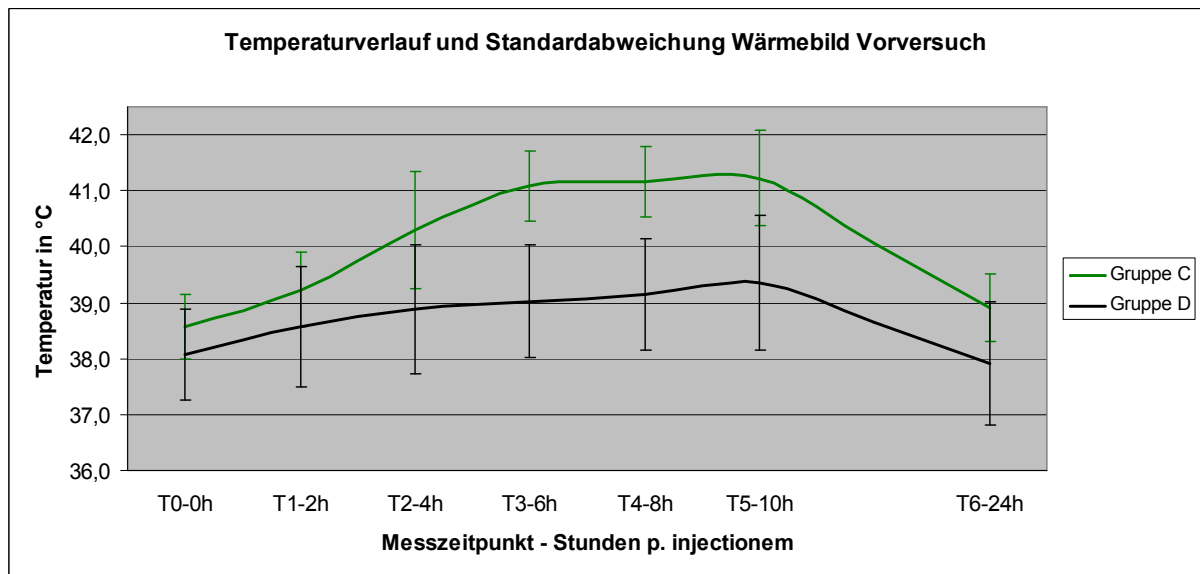
**Abbildung 7:** Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 6 der Gruppen A bis D, Parameter Wärmebild des Vorversuches



**Abbildung 8:** Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle sowie der dazugehörigen Standardabweichung bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 6 der Gruppen A und D, Parameter Wärmebild des Vorversuches



**Abbildung 9:** Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle sowie der dazugehörigen Standardabweichung bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 6 der Gruppen B und D, Parameter Wärmebild des Vorversuches



**Abbildung 10:** Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle sowie der dazugehörigen Standardabweichung bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 6 der Gruppen C und D, Parameter Wärmebild des Vorversuches

#### 4.1.2 Ergebnis Parameter Körperinnentemperatur

Die parallel zur Wärmebildkameraaufnahme gemessene Körperinnentemperatur schwankte bei den Tieren der **Gruppe A** (Ingelvac CircoFLEX®) im Mittel zwischen 39,5°C und 39,7°C, nachdem sie 2 Stunden nach der Impfung um 0,3°C abgesunken war. Der Mittelwert 10 Stunden nach Versuchsbeginn (T 6) lag im Schnitt 0,5°C unter der Durchschnittstemperatur zu Beginn (T 0). Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zur Kontrollgruppe.

Bei der **Gruppe B** (Ingelvac M.hyo®) sank die Temperatur bei der ersten Messung nach der Applikation (T 1) zuerst ab und erhöhte sich dann um bis zu 0,6°C. Die Schwankungen reichten bei den Mittelwerten von 39,6°C bis 39,9°C. Der letzte gemessene Wert (T 6) lag 0,2°C über dem Ausgangswert (T 0). Signifikante Unterschiede zu D ergaben sich bei T 0 bis T 3 und T 5 bis T 6, zur Kontrolluntergruppe D<sub>B</sub> bei den Messzeitpunkten T 2 bis T 6.

Der Temperaturmittelwert der **Gruppe C** (Ingelvac Flu®) stieg bei der zweiten Messung (T 2) nach der Impfung auf 40,4°C, bei den folgenden drei Messungen lag die Temperatur über 41°C. Vierundzwanzig Stunden nach Versuchsbeginn (T 8) lag der gemessene Mittelwert über 40°C. Bei Gruppe C traten signifikante Unterschiede zur Gruppe D bei T 2 bis T 6 auf, im Vergleich mit der Gruppe D<sub>C</sub> von T 2 bis T 5.

Die Mittelwerte der Körperinnentemperatur der Kontrolltiere aus **Gruppe D** (isotonische Kochsalzlösung) schwankte über den gesamten Versuchszeitraum zwischen 39,5°C und 39,6°C.

Die Mittelwerte der jeweiligen Gruppe bei den einzelnen Messzeitpunkten sowie die dazugehörigen Standardabweichungen sind in Tabelle 19 und in den Abbildungen 11 bis 14 dargestellt.

Die p-Werte des Parameters Körperinnentemperatur sind entsprechend denen beim Parameter Wärmebild (Punkt 4.1.1) berechnet worden und in den Tabellen 20 bis 22 zusammengefasst.

Zusätzlich wurde die Korrelation bei den Parametern Wärmebild und Körperinnentemperatur berechnet. Demzufolge besteht kein Zusammenhang bzw. keine Bindung zwischen diesen Parametern.

**Tabelle 19: Temperaturmittelwerte und Standardabweichungen in °C bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 6, Parameter Körperinnentemperatur des Vorversuches**

Messzeitpunkt (MZIP)		T 0	T 1	T 2	T 3	T 4	T 5	T 6
Stunden post injectionem		0	2	4	6	8	10	24
<b>Gruppe A</b>	MW	39,8	39,5	39,6	39,6	39,7	39,6	39,3
	SD	0,5	0,3	0,3	0,4	0,3	0,3	0,4
<b>Gruppe B</b>	MW	39,3	39,2	39,7	39,8	39,6	39,9	39,5
	SD	0,2	0,2	0,3	0,3	0,5	0,4	0,3
<b>Gruppe C</b>	MW	39,7	39,6	40,4	41,4	41,2	41,0	40,1
	SD	0,4	0,3	0,6	0,3	0,4	0,3	0,5
<b>Gruppe D</b>	MW	39,6	39,5	39,5	39,5	39,5	39,6	39,5
	SD	0,4	0,4	0,3	0,4	0,5	0,4	0,5

**Tabelle 20: p-Werte des Vergleiches der Gruppen A, B, C und D bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 6, Parameter Körperinnentemperatur des Vorversuches;  $p \leq 0,05$**

MZIP	T 0				T 1				T 2			
Gruppe	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
<b>A</b>	-	<b>0,006</b>	0,910	0,147	-	<b>0,011</b>	0,580	1,000	-	0,919	<b>0,000</b>	0,168
<b>B</b>	<b>0,000</b>	-	<b>0,001</b>	<b>0,007</b>	<b>0,011</b>	-	<b>0,000</b>	<b>0,001</b>	0,919	-	<b>0,000</b>	<b>0,020</b>
<b>C</b>	0,910	<b>0,001</b>	-	0,517	0,580	<b>0,000</b>	-	0,360	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	-	<b>0,000</b>
<b>D</b>	0,147	<b>0,007</b>	0,517	-	1,000	<b>0,001</b>	0,360	-	0,168	<b>0,020</b>	<b>0,000</b>	-

MZIP	T 3				T 4				T 5			
Gruppe	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
<b>A</b>	-	0,439	<b>0,000</b>	0,381	-	1,000	<b>0,000</b>	0,520	-	0,051	<b>0,000</b>	0,978
<b>B</b>	0,439	-	<b>0,000</b>	<b>0,003</b>	1,000	-	<b>0,000</b>	0,573	0,051	-	<b>0,000</b>	<b>0,027</b>
<b>C</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	-	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	-	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	-	<b>0,000</b>
<b>D</b>	0,381	<b>0,003</b>	<b>0,000</b>	-	0,520	0,573	<b>0,000</b>	-	0,978	<b>0,027</b>	<b>0,000</b>	-

MZIP	T 6			
Gruppe	A	B	C	D
<b>A</b>	-	0,328	<b>0,000</b>	0,485
<b>B</b>	0,328	-	<b>0,000</b>	0,916
<b>C</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	-	<b>0,000</b>
<b>D</b>	0,485	0,916	<b>0,000</b>	-

**Tabelle 21: p-Werte des Vergleiches der Gruppen A, B und C mit der Kontrollgruppe D und den dazu gehörigen Kontrolluntergruppen D<sub>A</sub>, D<sub>B</sub> und D<sub>C</sub> bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 6, Parameter Körperinnentemperatur des Vorversuches;  $p \leq 0,017$**

MZIP	T 0	T 1	T 2	T 3	T 4	T 5	T 6
<b>Gruppe A - D</b>	0,091	0,936	0,030	0,133	0,093	0,649	0,145
<b>Gruppe A - D<sub>A</sub></b>	0,484	0,629	0,034	0,096	0,424	0,611	0,805
<b>Gruppe B - D</b>	<b>0,001</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,001</b>	0,260	<b>0,008</b>	0,518
<b>Gruppe B - D<sub>B</sub></b>	0,318	0,779	<b>0,004</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,002</b>
<b>Gruppe C - D</b>	0,155	0,122	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>
<b>Gruppe C - D<sub>C</sub></b>	0,226	0,081	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	0,035

**Tabelle 22: p-Werte des Vergleiches der einzelnen Messzeitpunkte mit dem Ausgangswert und zwischen zwei aufeinander folgenden Messzeitpunkten, Messzeitpunkte T 0 bis T 6, Gruppen A, B, C, D, D<sub>A</sub>, D<sub>B</sub> und D<sub>C</sub>, Parameter Wärmebild des Vorversuches;  $p \leq 0,05$**

	Messzeitpunkte	p-Werte	Messzeitpunkte	p-Werte
<b>Gruppe A</b>				
	T 0 – T 1	<b>0,001</b>		
	T 0 – T 2	0,095	T 1 – T 2	0,061
	T 0 – T 3	0,056	T 2 – T 3	0,820
	T 0 – T 4	0,088	T 3 – T 4	0,389
	T 0 – T 5	<b>0,030</b>	T 4 – T 5	0,213
	T 0 – T 6	<b>0,000</b>	T 5 – T 6	<b>0,003</b>
<b>Gruppe B</b>				
	T 0 – T 1	<b>0,038</b>		
	T 0 – T 2	<b>0,000</b>	T 1 – T 2	<b>0,000</b>
	T 0 – T 3	<b>0,000</b>	T 2 – T 3	0,313
	T 0 – T 4	<b>0,001</b>	T 3 – T 4	0,192
	T 0 – T 5	<b>0,000</b>	T 4 – T 5	<b>0,019</b>
	T 0 – T 6	<b>0,003</b>	T 5 – T 6	<b>0,000</b>
<b>Gruppe C</b>				
	T 0 – T 1	0,204		
	T 0 – T 2	<b>0,000</b>	T 1 – T 2	<b>0,000</b>
	T 0 – T 3	<b>0,000</b>	T 2 – T 3	<b>0,000</b>
	T 0 – T 4	<b>0,000</b>	T 3 – T 4	<b>0,010</b>
	T 0 – T 5	<b>0,000</b>	T 4 – T 5	0,101
	T 0 – T 6	<b>0,002</b>	T 5 – T 6	<b>0,000</b>
<b>Gruppe D</b>				
	T 0 – T 1	<b>0,004</b>		
	T 0 – T 2	<b>0,002</b>	T 1 – T 2	0,236
	T 0 – T 3	<b>0,010</b>	T 2 – T 3	0,416
	T 0 – T 4	<b>0,042</b>	T 3 – T 4	0,483
	T 0 – T 5	0,266	T 4 – T 5	<b>0,002</b>
	T 0 – T 6	<b>0,003</b>	T 5 – T 6	<b>0,000</b>
<b>Gruppe D<sub>A</sub></b>				
	T 0 – T 1	<b>0,002</b>		
	T 0 – T 2	<b>0,000</b>	T 1 – T 2	0,059
	T 0 – T 3	<b>0,000</b>	T 2 – T 3	0,611
	T 0 – T 4	<b>0,055</b>	T 3 – T 4	<b>0,005</b>
	T 0 – T 5	0,436	T 4 – T 5	0,233
	T 0 – T 6	<b>0,001</b>	T 5 – T 6	<b>0,008</b>
<b>Gruppe D<sub>B</sub></b>				
	T 0 – T 1	0,365		
	T 0 – T 2	<b>0,001</b>	T 1 – T 2	<b>0,001</b>
	T 0 – T 3	0,590	T 2 – T 3	<b>0,047</b>
	T 0 – T 4	0,148	T 3 – T 4	<b>0,043</b>
	T 0 – T 5	<b>0,042</b>	T 4 – T 5	<b>0,000</b>
	T 0 – T 6	0,379	T 5 – T 6	<b>0,035</b>
<b>Gruppe D<sub>C</sub></b>				
	T 0 – T 1	0,220		
	T 0 – T 2	<b>0,000</b>	T 1 – T 2	<b>0,000</b>
	T 0 – T 3	0,098	T 2 – T 3	<b>0,001</b>
	T 0 – T 4	0,761	T 3 – T 4	0,150
	T 0 – T 5	0,419	T 4 – T 5	0,354
	T 0 – T 6	0,774	T 5 – T 6	0,257

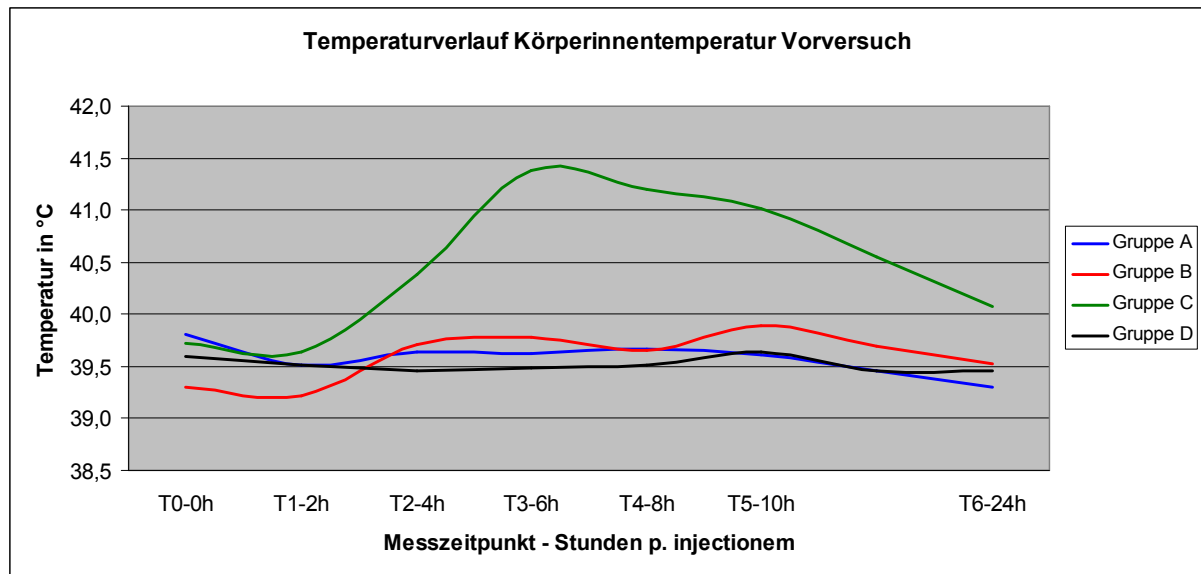


Abbildung 11: Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 6 der Gruppen A bis D, Parameter Körperinnentemperatur des Vorversuches

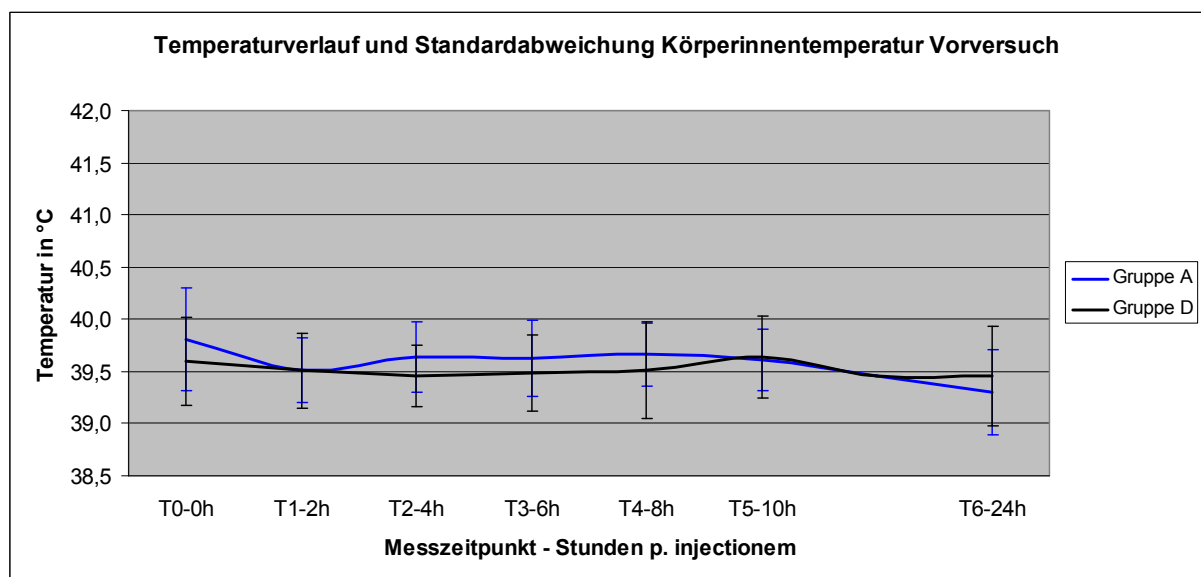
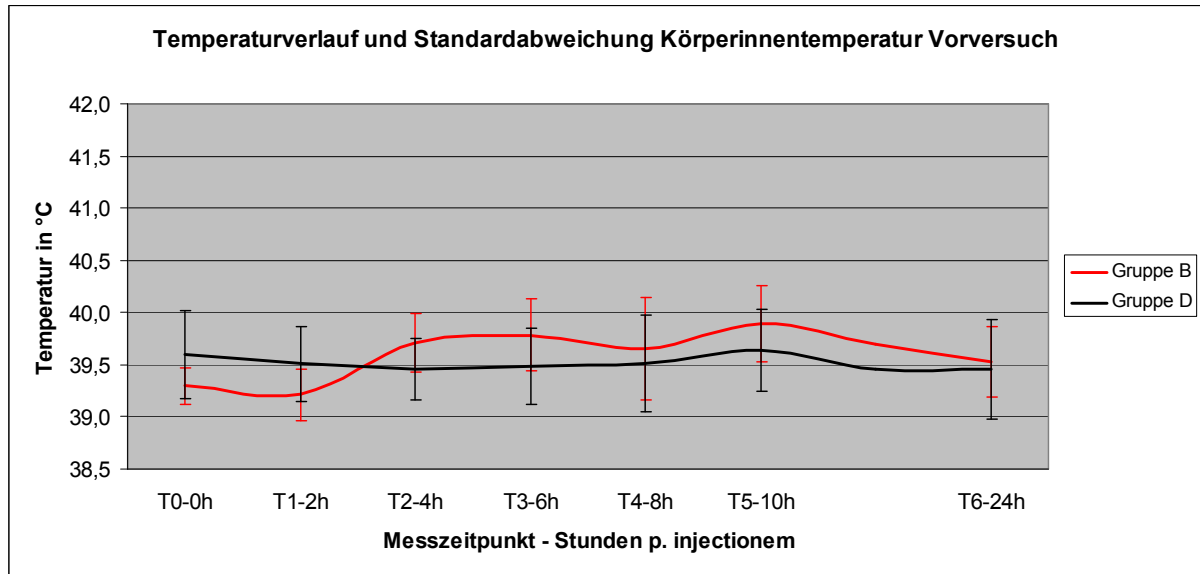
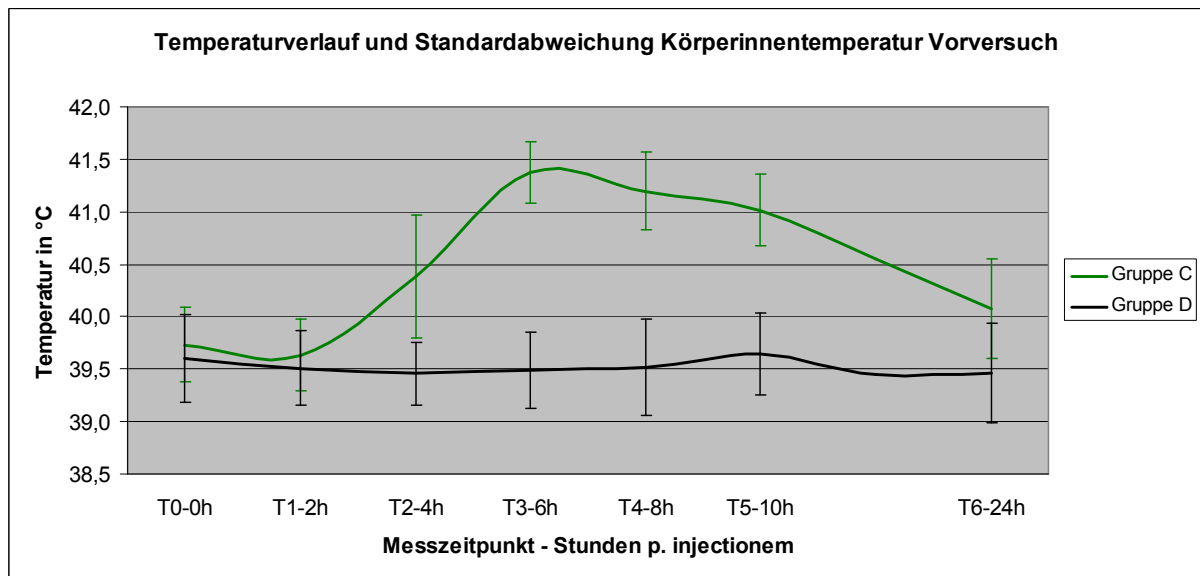


Abbildung 12: Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle sowie der dazugehörigen Standardabweichung bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 6 der Gruppen A und D, Parameter Körperinnentemperatur des Vorversuches





**Abbildung 13:** Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle sowie der dazugehörigen Standardabweichung bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 6 der Gruppen B und D, Parameter Körperinnentemperatur des Vorversuches



**Abbildung 14:** Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle sowie der dazugehörigen Standardabweichung bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 6 der Gruppen C und D, Parameter Körperinnentemperatur des Vorversuches

#### 4.1.3 Ergebnis Score Allgemeinbefinden

Der Score Allgemeinbefinden lieferte keine vom physiologischen Zustand abweichenden Ergebnisse. Alle Tiere waren zu jedem Zeitpunkt vor, während und nach der Versuchsdurchführung ohne Auffälligkeiten bezüglich des Habitus und der Wasser-/ Futteraufnahme.

#### 4.1.4 Ergebnis Score lokale Gewebepalpation

Bei den Tieren der **Gruppe A** wurden nach zwei bzw. vier Stunden ab Versuchsbeginn 5 bzw. 14 Tiere gemäß dem Score Wert 1 beurteilt. Nach sechs Stunden (T 3) waren es je 10 Tiere mit Veränderungen gemäß Score Wert 1 und 2; weitere zwei Stunden später (T 4) waren jeweils 11 Tiere mit Befunden gemäß den Score Werten 1 und 2. Zehn Stunden post applicationem waren 11 Tiere gemäß Stufe 1 bewertet, 6 Tiere mit Stufe 2. Am zweiten Tag (T 6) wurden 6 Tiere mit Stufe 1 bewertet.

Bei den Tieren der **Gruppe B** wurden zwei Stunden nach der Applikation 2 Tiere in Stufe 1 eingeteilt. Vier Stunden nach Injektion waren 3 Tiere mit Befunden gemäß Stufe 1.

Veränderungen gemäß Score Stufe 1 und zeigten 11 und 4 Tiere der **Gruppe C** zwei Stunden nach Impfung. Zwei Stunden später (T 2) waren es 12 bzw. 3 Tiere mit Einteilung in Stufe 1 bzw. 2. Sechs Stunden nach Versuchsbeginn hatten 9 Tiere Veränderungen gemäß Stufe 1, 7 Tiere gemäß Stufe 2. Jeweils 5 Tiere wurden beim vorletzten Messzeitpunkt des Versuchstages (T 5) in die Stufe 1 bzw. 2 eingeteilt. Am zweiten Tag (T 6) hatte 1 Tier Veränderungen gemäß Score Stufe 1.

Von den 74 Kontrolltieren (**Gruppe D**) wurden 15 beim ersten Messzeitpunkt (T 1) nach Applikation gemäß dem Score Wert 1 beurteilt. Nach weiteren zwei Stunden hatten 21 Tiere Befunde gemäß Stufe 1, ein Tier gemäß Stufe 2. Beim dritten Messzeitpunkt (T 3) hatten 22 Tiere Befunde gemäß Stufe 1, 7 gem. Stufe 2. Bei der darauf folgenden Messung wurden 20 bzw. 4 Tiere in Stufe 1 bzw. 2 eingeteilt. 15 Tiere hatten zehn Stunden nach Injektion Veränderungen entsprechend Stufe 1, bei 2 Tieren war dies nach vierundzwanzig Stunden der Fall.

Tabelle 23 gibt einen Überblick über die Anzahl der Tiere der jeweiligen Gruppen mit Veränderungen im Score und der damit verbundenen Einstufung in Score Wert 1-3.

**Tabelle 23: Anzahl der Tiere mit Veränderungen im Score lokale Gewebepalpation bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 6 des Vorversuches**

Score		Gruppe A (23 Tiere)			Gruppe B (25 Tiere)			Gruppe C (25 Tiere)			Gruppe D (74 Tiere)		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Messzeitpunkt	<b>T 0</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<b>T 1</b>	5	-	-	2	-	-	11	4	-	15	-	-
	<b>T 2</b>	14	-	-	3	-	-	12	3	-	21	1	-
	<b>T 3</b>	10	10	-	-	-	-	9	7	-	22	7	-
	<b>T 4</b>	11	11	-	-	-	-	5	5	-	20	4	-
	<b>T 5</b>	11	6	-	-	-	-	7	-	-	15	-	-
	<b>T 6</b>	6	-	-	-	-	-	1	-	-	2	-	-

## 4.2 Hauptversuch

Der Hauptversuch fand mit insgesamt 60 Tieren an der Klinik für Schweine in Oberschleißheim statt. Wie im Vorversuch wurden die beiden Parameter Wärmebildkamera und Körperinnentemperatur und die beiden Scores Allgemeinbefinden und lokale Gewebepalpation beurteilt. In der Sektion wurden zusätzlich makroskopische und histopathologische Veränderungen des Gewebes im Bereich der Injektionsstelle bzw. des Stichkanals der Kanüle erfasst.

Da in den ersten 24 Stunden der Versuchsdurchführung die beiden Hauptgruppen (1 und 2) in allen Merkmalen identisch waren, wurden die Daten der Messzeitpunkte in diesem Zeitfenster (T 0 bis T 8) zusammen ausgewertet. Die gesammelten Daten und Mittelwerte stammen demzufolge im Zeitraum T 0 bis T 8 von 60 Tieren, im Zeitraum T 9 bis T 14 von 30 Tieren.

### 4.2.1 Ergebnis Parameter Wärmebildkamera

Die Tiere aus den **Gruppen 1A und 2A** wiesen bis sechs Stunden nach der Impfung lokal einen Anstieg der gemittelten Temperatur von 36,6°C auf 37,5°C auf. Der höchste Wert wurde 14 Stunden nach Applikation mit 38,4°C gemessen. Der 24-Stunden Wert (T 8) lag mit 37,6°C ein Grad über dem Ausgangswert (T 0). Signifikante Unterschiede zwischen Impf- und Kontrollgruppe bestanden bei T 1 bis

T 3 sowie bei T 5 und T 7. Zwischen der Impf- und Kontrolluntergruppe D<sub>A</sub> bestanden keine signifikanten Unterschiede.

Im Verlauf der nächsten sechs Tage schwankte der lokal gemessene Temperaturmittelwert der **Gruppe 2A** zwischen 36,5°C und 38,5°C. Beim Messzeitpunkt T 12 wurde ein signifikanter Unterschied zwischen der Gruppe 2A und 2D beobachtet.

Bei den Tieren aus den **Gruppen 1B und 2B** konnte innerhalb der ersten 9 Messungen zuerst ein Abfall der lokalen Wärme um ein Grad bemerkt werden. Die folgenden Werte lagen bis zum Zeitpunkt T 8 im Bereich des Ausgangswertes.

48 Stunden nach Versuchsbeginn erhöhte sich die Temperatur bei der **Gruppe 2B** um eine Grad auf 37,8°C, sank im Verlauf der folgenden Tage unter das Ausgangsniveau von 36,6°C. Zu keinem Zeitpunkt konnten signifikante Unterschiede festgestellt werden.

Bei den Tieren der **Gruppen 1C und 2C** fiel die lokal gemessene Temperatur im Mittelwert nach zwei Stunden um 0,5°C ab. Im Verlauf der weiteren Messungen konnte eine Steigerung der Temperatur auf maximal 37,5°C beobachtet werden. Nach 24 Stunden lag der Mittelwert bei 36,9°C. Bei den Messzeitpunkten T 4 und T 5 waren die Unterschiede zwischen Impfgruppe und beiden Kontrollgruppen (D und D<sub>C</sub>) signifikant.

Bei **Gruppe 2C** blieb die lokale Temperatur im Verlauf der nächsten sechs Tage konstant, verringerte sich ab T 11 aber kontinuierlich, am letzten Messzeitpunkt T 14 wurde die gleiche Temperatur wie bei T 0 gemessen. Es bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen Impf- und Kontrollgruppe.

Bei den Kontrolltieren (**Gruppe 1D und 2D**) sank die Temperatur an der Injektionsstelle von 36,3°C zu Beginn um ein Grad ab (T 2), die maximale Temperatur wurde bei T 6 mit 37,1°C gemessen. Bei T 8 war der Ausgangswert wieder erreicht.

Während der folgenden Messungen T 9 bis T 14 erhöhte sich die Temperatur von **Gruppe 2D** im Mittelwert zunächst auf 37,1°C, sank dann aber kontinuierlich auf 35,1°C ab.

Die Mittelwerte der jeweiligen Gruppe bei den einzelnen Messzeitpunkten sowie die dazugehörigen Standardabweichungen sind in den Tabellen 24 und 25 sowie in den Abbildungen 15 bis 22 dargestellt.

Die p-Werte des Parameters Wärmebild sind in den Tabellen 26 bis 31 zusammengefasst. Tabelle 26 bzw. 27 zeigen die p-Werte des Vergleichs der drei Impfgruppen und der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt der jeweiligen Messung. In Tabelle 28 bzw. 29 sind die p-Werte für die Impfgruppen in Bezug auf die gesamte Kontrollgruppe (D) und in Bezug auf die dazugehörige Kontrolluntergruppe ( $D_A$ ,  $D_B$ ,  $D_C$ ) aufgeführt. In Tabelle 30 bzw. 31 sind für jede Gruppe die p-Werte dargestellt, die sich aus der vergleichenden Berechnung zweier aufeinander folgender Messzeitpunkte und eines Messzeitpunktes in Bezug auf den Ausgangswert bei T 0 ergeben.

**Tabelle 24: Temperaturwerte und Standardabweichungen in °C bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 8, Gruppen 1A bis 1D und 2A bis 2D, Parameter Wärmebild des Hauptversuches**

Messzeitpunkt (MZP)		T 0	T 1	T 2	T 3	T 4	T 5	T 6	T 7	T 8
Stunden post injectionem		0	2	4	6	8	10	12	14	24
<b>Gruppen 1A, 2A</b>	MW	36,6	37,2	37,1	37,5	37,1	37,9	37,9	38,4	37,6
	SD	0,5	1,0	1,2	0,8	1,7	0,9	1,1	1,0	1,0
<b>Gruppen 1B, 2B</b>	MW	36,6	36,4	35,5	36,4	36,5	36,4	36,6	36,9	36,7
	SD	0,8	1,1	1,1	0,8	1,4	1,4	1,4	1,4	1,2
<b>Gruppen 1C, 2C</b>	MW	36,2	35,7	36,0	36,7	37,4	37,2	37,5	37,3	36,9
	SD	1,0	1,0	0,9	1,2	1,1	1,0	1,2	0,6	1,1
<b>Gruppen 1D, 2D</b>	MW	36,3	35,5	35,4	36,1	36,0	35,9	37,1	36,8	36,3
	SD	0,7	1,1	0,9	1,3	0,7	1,0	1,1	1,5	1,1

**Tabelle 25: Temperaturwerte und Standardabweichungen in °C bei den Messzeitpunkten T 9 bis T 14, Gruppen 2A bis 2D, Parameter Wärmebild des Hauptversuches**

Messzeitpunkt (MZP)		T 9	T 10	T 11	T 12	T 13	T 14
Stunden post injectionem		48	72	96	120	144	168
<b>Gruppe 2A</b>	MW	38,5	38,2	36,5	37,9	37,6	36,8
	SD	0,9	1,2	0,7	0,7	0,4	0,8
<b>Gruppe 2B</b>	MW	37,8	37,1	36,8	36,9	36,7	36,4
	SD	0,9	1,4	0,5	0,9	1,0	0,9
<b>Gruppe 2C</b>	MW	36,9	37,1	36,5	36,4	36,0	36,2
	SD	1,2	1,0	1,1	1,4	2,2	1,6
<b>Gruppe 2D</b>	MW	36,9	36,7	36,3	36,1	35,5	35,1
	SD	1,0	1,0	0,6	0,4	1,4	1,6

**Tabelle 26: p-Werte des Vergleiches der Gruppen 1A bis 1D sowie 2A bis 2D bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 8, Parameter Wärmebild des Hauptversuches;  $p \leq 0,05$**

MZP	T 0				T 1				T 2			
Gruppen	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
A	-	0,999	0,535	0,831	-	0,148	<b>0,002</b>	<b>0,001</b>	-	<b>0,001</b>	<b>0,028</b>	<b>0,000</b>
B	0,999	-	0,605	0,879	0,148	-	0,320	0,199	<b>0,001</b>	-	0,541	0,967
C	0,535	0,605	-	0,978	<b>0,002</b>	0,320	-	0,977	<b>0,028</b>	0,541	-	0,332
D	0,831	0,879	0,978	-	<b>0,001</b>	0,199	0,977	-	<b>0,000</b>	0,967	0,332	-

MZP	T 3				T 4				T 5			
Gruppen	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
A	-	<b>0,037</b>	0,160	<b>0,006</b>	-	0,586	0,935	0,121	-	<b>0,002</b>	0,285	<b>0,000</b>
B	<b>0,037</b>	-	0,915	0,810	0,586	-	0,258	0,702	<b>0,002</b>	-	0,208	0,783
C	0,160	0,915	-	0,449	0,935	0,258	-	<b>0,034</b>	0,285	0,208	-	0,783
D	<b>0,006</b>	0,810	0,449	-	0,121	0,702	<b>0,034</b>	-	<b>0,000</b>	0,783	<b>0,037</b>	-

MZP	T 6				T 7				T 8			
Gruppen	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
A	-	<b>0,027</b>	0,864	0,355	-	<b>0,007</b>	0,081	<b>0,007</b>	-	0,154	0,374	<b>0,023</b>
B	<b>0,027</b>	-	0,159	0,735	<b>0,007</b>	-	0,781	0,994	0,154	-	0,955	0,762
C	0,864	0,159	-	0,784	0,081	0,781	-	0,673	0,374	0,955	-	0,471
D	0,355	0,735	0,784	-	<b>0,007</b>	0,994	0,673	-	<b>0,023</b>	0,762	0,471	-

**Tabelle 27: p-Werte des Vergleiches der Gruppen 2A bis 2D bei den Messzeitpunkten T 9 bis T 14, Parameter Wärmebild des Hauptversuches;  $p \leq 0,05$**

MZP	T 9				T 10				T 11			
Gruppe	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
A	-	0,610	<b>0,033</b>	0,065	-	0,339	0,380	0,171	-	0,909	0,999	0,955
B	0,610	-	0,347	0,465	0,339	-	1,000	0,947	0,909	-	0,846	0,674
C	<b>0,033</b>	0,347	-	1,000	0,380	1,000	-	0,925	0,999	0,846	-	0,982
D	0,065	0,465	1,000	-	0,171	0,947	0,925	-	0,955	0,674	0,982	-

MZP	T 12				T 13				T 14			
Gruppe	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
A	-	0,183	<b>0,031</b>	<b>0,012</b>	-	0,656	0,163	0,076	-	0,960	0,852	0,124
B	0,183	-	0,820	0,494	0,656	-	0,754	0,470	0,960	-	0,989	0,277
C	<b>0,031</b>	0,820	-	0,924	0,163	0,754	-	0,946	0,852	0,989	-	0,420
D	<b>0,012</b>	0,494	0,924	-	0,076	0,470	0,946	-	0,124	0,277	0,420	-

**Tabelle 28: p-Werte des Vergleiches der Gruppen 1A bis 1C und 2A bis 2C mit der Kontrollgruppe 1D und 2D und den dazu gehörigen Kontrolluntergruppen 1D<sub>A-C</sub> und 2D<sub>A-C</sub> bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 8, Parameter Wärmebild des Hauptversuches;  $p \leq 0,017$**

MZP	T 0	T 1	T 2	T 3	T 4	T 5	T 6	T 7	T 8
<b>Gruppen A - D</b>	0,329	<b>0,001</b>	<b>0,000</b>	<b>0,005</b>	0,043	<b>0,000</b>	0,088	<b>0,008</b>	0,06
<b>Gruppen A - D<sub>A</sub></b>	0,817	0,156	0,033	0,552	0,261	0,103	0,437	0,238	0,219
<b>Gruppen B - D</b>	0,464	0,066	0,640	0,419	0,193	0,398	0,322	0,842	0,361
<b>Gruppen B - D<sub>B</sub></b>	0,660	0,145	0,860	0,545	0,618	0,614	0,362	0,844	0,731
<b>Gruppen C - D</b>	0,723	0,689	0,066	0,232	<b>0,000</b>	<b>0,006</b>	0,335	0,245	0,155
<b>Gruppen C - D<sub>C</sub></b>	0,348	0,186	0,019	0,064	<b>0,011</b>	<b>0,010</b>	0,311	0,294	0,126

**Tabelle 29: p-Werte des Vergleiches der Gruppen 2A bis 2C mit der Kontrollgruppe 2D und den dazu gehörigen Kontrolluntergruppen 2D<sub>A-C</sub> bei den Messzeitpunkten T 9 bis T 14, Parameter Wärmebild des Hauptversuches;  $p \leq 0,017$**

MZP	T 9	T 10	T 11	T 12	T 13	T 14
<b>Gruppe A - D</b>	0,021	0,039	0,574	<b>0,000</b>	0,018	0,035
<b>Gruppe A - D<sub>A</sub></b>	0,420	0,342	0,273	0,091	0,293	0,481
<b>Gruppe B - D</b>	0,158	0,600	0,171	0,082	0,132	0,087
<b>Gruppe B - D<sub>B</sub></b>	0,829	0,956	0,116	0,297	0,607	0,973
<b>Gruppe C - D</b>	0,933	0,473	0,738	0,597	0,672	0,246
<b>Gruppe C - D<sub>C</sub></b>	0,220	0,107	0,358	0,511	0,228	0,052

**Tabelle 30: p-Werte des Vergleiches der einzelnen Messzeitpunkte mit dem Ausgangswert und zwischen zwei aufeinander folgenden Messzeitpunkten, Messzeitpunkte T 0 bis T 8, Gruppen 1A bis 1D und 2A bis 2D sowie 1D<sub>A-C</sub> und 2D<sub>A-C</sub>, Parameter Wärmebild des Hauptversuches;  $p \leq 0,05$**

	Messzeitpunkte	p-Werte	Messzeitpunkte	p-Werte
<b>Gruppen A</b>				
	T 0 – T 1	0,092		
	T 0 – T 2	0,150	T 1 – T 2	0,867
	T 0 – T 3	<b>0,001</b>	T 2 – T 3	0,243
	T 0 – T 4	0,249	T 3 – T 4	0,398
	T 0 – T 5	<b>0,000</b>	T 4 – T 5	0,168
	T 0 – T 6	<b>0,000</b>	T 5 – T 6	0,836
	T 0 – T 7	<b>0,000</b>	T 6 – T 7	0,154
	T 0 – T 8	<b>0,001</b>	T 7 – T 8	<b>0,020</b>
<b>Gruppen B</b>				
	T 0 – T 1	0,478		
	T 0 – T 2	<b>0,002</b>	T 1 – T 2	0,000
	T 0 – T 3	0,475	T 2 – T 3	0,003
	T 0 – T 4	0,927	T 3 – T 4	0,741
	T 0 – T 5	0,489	T 4 – T 5	0,663
	T 0 – T 6	0,966	T 5 – T 6	0,051
	T 0 – T 7	0,379	T 6 – T 7	0,267
	T 0 – T 8	0,553	T 7 – T 8	0,635
<b>Gruppen C</b>				
	T 0 – T 1	<b>0,042</b>		
	T 0 – T 2	0,373	T 1 – T 2	0,203
	T 0 – T 3	<b>0,038</b>	T 2 – T 3	<b>0,000</b>
	T 0 – T 4	<b>0,000</b>	T 3 – T 4	<b>0,002</b>
	T 0 – T 5	<b>0,002</b>	T 4 – T 5	0,317
	T 0 – T 6	<b>0,000</b>	T 5 – T 6	0,236
	T 0 – T 7	<b>0,000</b>	T 6 – T 7	0,449
	T 0 – T 8	<b>0,021</b>	T 7 – T 8	0,081
<b>Gruppen D</b>				
	T 0 – T 1	<b>0,028</b>		
	T 0 – T 2	<b>0,002</b>	T 1 – T 2	0,613
	T 0 – T 3	0,363	T 2 – T 3	0,075
	T 0 – T 4	0,238	T 3 – T 4	0,807
	T 0 – T 5	0,077	T 4 – T 5	0,926
	T 0 – T 6	<b>0,008</b>	T 5 – T 6	<b>0,000</b>
	T 0 – T 7	0,251	T 6 – T 7	0,249
	T 0 – T 8	0,818	T 7 – T 8	0,078
<b>Gruppen D<sub>A</sub></b>				
	T 0 – T 1	0,244		
	T 0 – T 2	0,140	T 1 – T 2	0,246
	T 0 – T 3	0,348	T 2 – T 3	0,114
	T 0 – T 4	0,309	T 3 – T 4	0,268
	T 0 – T 5	0,239	T 4 – T 5	0,736
	T 0 – T 6	0,682	T 5 – T 6	0,149
	T 0 – T 7	0,785	T 6 – T 7	0,711
	T 0 – T 8	0,352	T 7 – T 8	0,186
<b>Gruppen D<sub>B</sub></b>				
	T 0 – T 1	0,239		
	T 0 – T 2	0,129	T 1 – T 2	0,913
	T 0 – T 3	0,450	T 2 – T 3	0,328
	T 0 – T 4	0,783	T 3 – T 4	0,781
	T 0 – T 5	0,240	T 4 – T 5	0,798
	T 0 – T 6	<b>0,022</b>	T 5 – T 6	<b>0,006</b>
	T 0 – T 7	0,447	T 6 – T 7	0,248
	T 0 – T 8	0,867	T 7 – T 8	0,603
<b>Gruppen D<sub>C</sub></b>				
	T 0 – T 1	0,206		
	T 0 – T 2	0,076	T 1 – T 2	0,975
	T 0 – T 3	0,325	T 2 – T 3	0,695
	T 0 – T 4	0,643	T 3 – T 4	0,059
	T 0 – T 5	0,508	T 4 – T 5	0,658
	T 0 – T 6	<b>0,041</b>	T 5 – T 6	<b>0,014</b>
	T 0 – T 7	0,462	T 6 – T 7	0,620
	T 0 – T 8	0,839	T 7 – T 8	0,317



**Tabelle 31: p-Werte des Vergleiches der einzelnen Messzeitpunkte mit dem Ausgangswert und zwischen zwei aufeinander folgenden Messzeitpunkten, Messzeitpunkte T 9 bis T 14, Gruppen 2A bis 2D sowie 2D<sub>A-C</sub>, Parameter Wärmebild des Hauptversuches;  $p \leq 0,05$**

	Messzeitpunkte	p-Werte	Messzeitpunkte	p-Werte
<b>Gruppe A</b>				
	T 0 – T 9	<b>0,000</b>	T 8 – T 9	<b>0,033</b>
	T 0 – T 10	<b>0,004</b>	T 9 – T 10	0,482
	T 0 – T 11	0,773	T 10 – T 11	<b>0,001</b>
	T 0 – T 12	<b>0,000</b>	T 11 – T 12	<b>0,000</b>
	T 0 – T 13	<b>0,005</b>	T 12 – T 13	0,381
	T 0 – T 14	0,196	T 13 – T 14	0,105
<b>Gruppe B</b>				
	T 0 – T 9	<b>0,000</b>	T 8 – T 9	<b>0,017</b>
	T 0 – T 10	0,170	T 9 – T 10	0,103
	T 0 – T 11	0,303	T 10 – T 11	0,603
	T 0 – T 12	0,122	T 11 – T 12	0,836
	T 0 – T 13	0,183	T 12 – T 13	0,303
	T 0 – T 14	0,945	T 13 – T 14	0,314
<b>Gruppe C</b>				
	T 0 – T 9	0,119	T 8 – T 9	0,635
	T 0 – T 10	<b>0,036</b>	T 9 – T 10	0,374
	T 0 – T 11	0,475	T 10 – T 11	0,113
	T 0 – T 12	0,423	T 11 – T 12	0,966
	T 0 – T 13	0,741	T 12 – T 13	0,476
	T 0 – T 14	0,967	T 13 – T 14	0,553
<b>Gruppe D</b>				
	T 0 – T 9	0,056	T 8 – T 9	<b>0,047</b>
	T 0 – T 10	0,091	T 9 – T 10	0,330
	T 0 – T 11	0,607	T 10 – T 11	0,372
	T 0 – T 12	0,872	T 11 – T 12	0,433
	T 0 – T 13	0,411	T 12 – T 13	0,270
	T 0 – T 14	0,163	T 13 – T 14	0,225
<b>Gruppe D<sub>A</sub></b>				
	T 0 – T 9	0,323	T 8 – T 9	0,192
	T 0 – T 10	1,000	T 9 – T 10	0,910
	T 0 – T 11	<b>0,049</b>	T 10 – T 11	0,844
	T 0 – T 12	0,126	T 11 – T 12	0,500
	T 0 – T 13	0,058	T 12 – T 13	0,874
	T 0 – T 14	0,111	T 13 – T 14	0,374
<b>Gruppe D<sub>B</sub></b>				
	T 0 – T 9	0,079	T 8 – T 9	0,447
	T 0 – T 10	0,222	T 9 – T 10	0,558
	T 0 – T 11	0,639	T 10 – T 11	0,575
	T 0 – T 12	0,656	T 11 – T 12	0,626
	T 0 – T 13	0,563	T 12 – T 13	0,500
	T 0 – T 14	0,295	T 13 – T 14	0,958
<b>Gruppe D<sub>C</sub></b>				
	T 0 – T 9	0,844	T 8 – T 9	0,644
	T 0 – T 10	0,705	T 9 – T 10	1,000
	T 0 – T 11	0,558	T 10 – T 11	0,814
	T 0 – T 12	0,156	T 11 – T 12	0,874
	T 0 – T 13	0,105	T 12 – T 13	0,095
	T 0 – T 14	0,056	T 13 – T 14	0,614

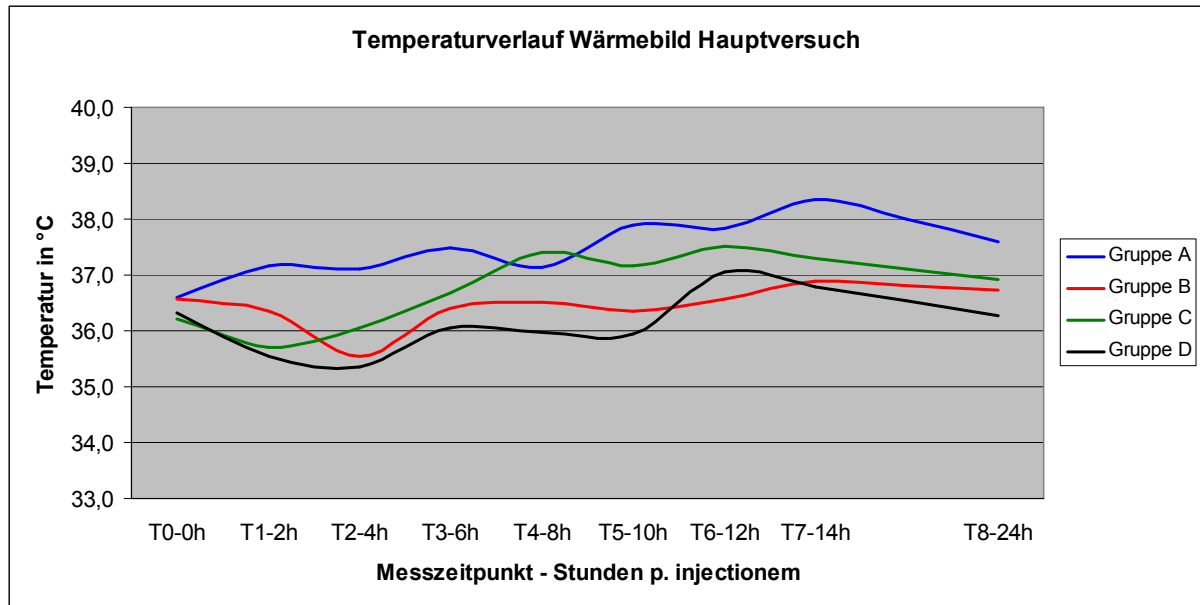


Abbildung 15: Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 8 der Gruppen 1A bis 1D und 2A bis 2D, Parameter Wärmebild des Hauptversuches

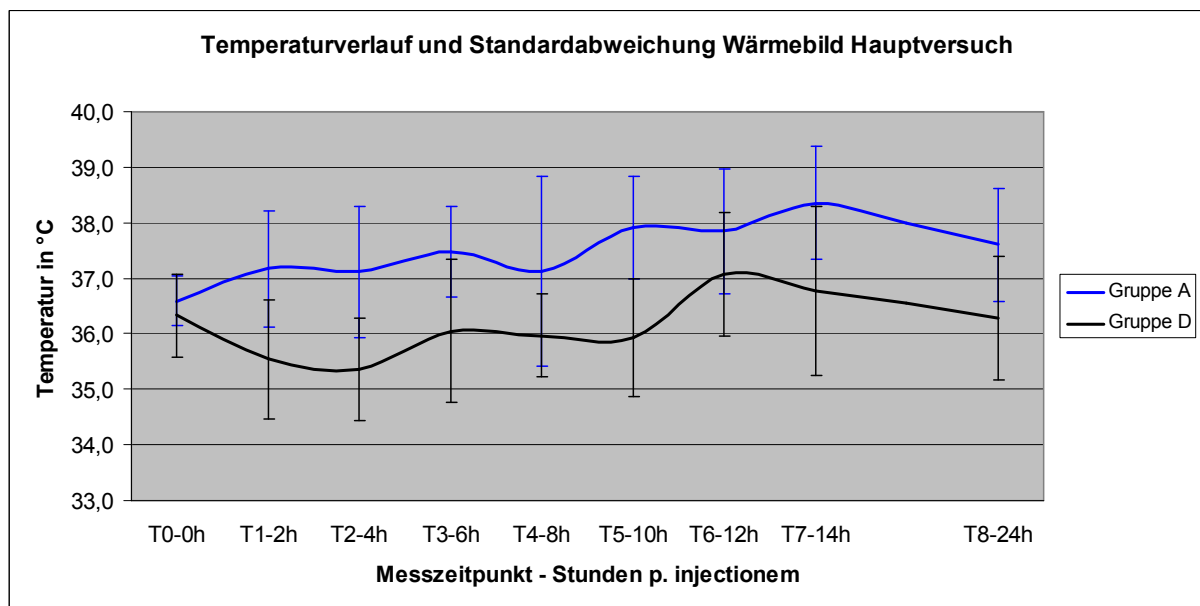
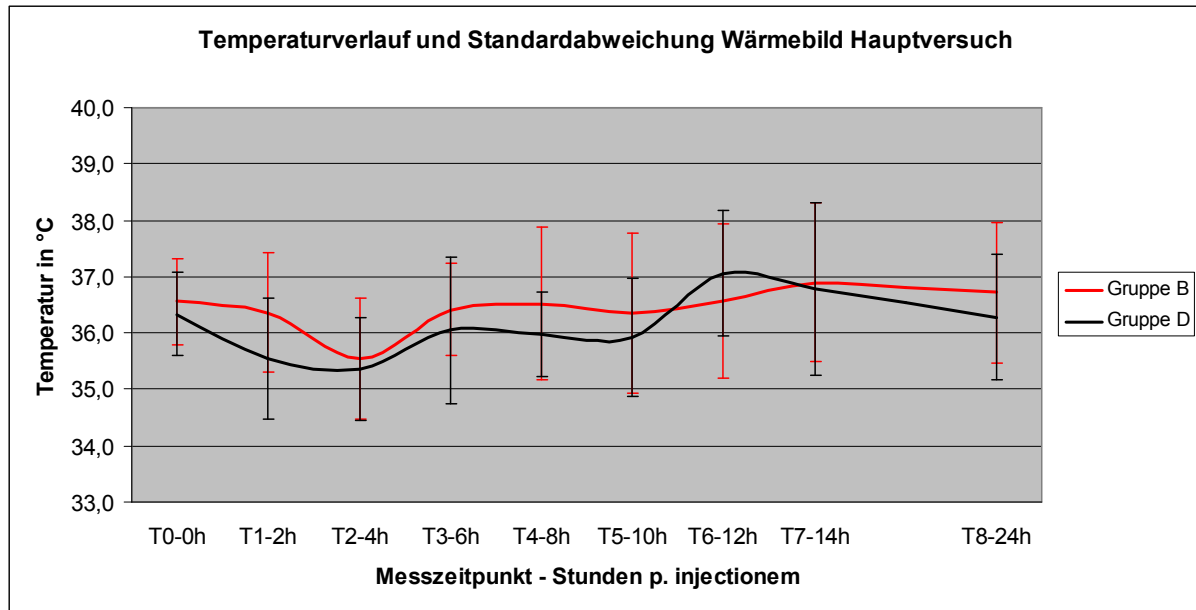
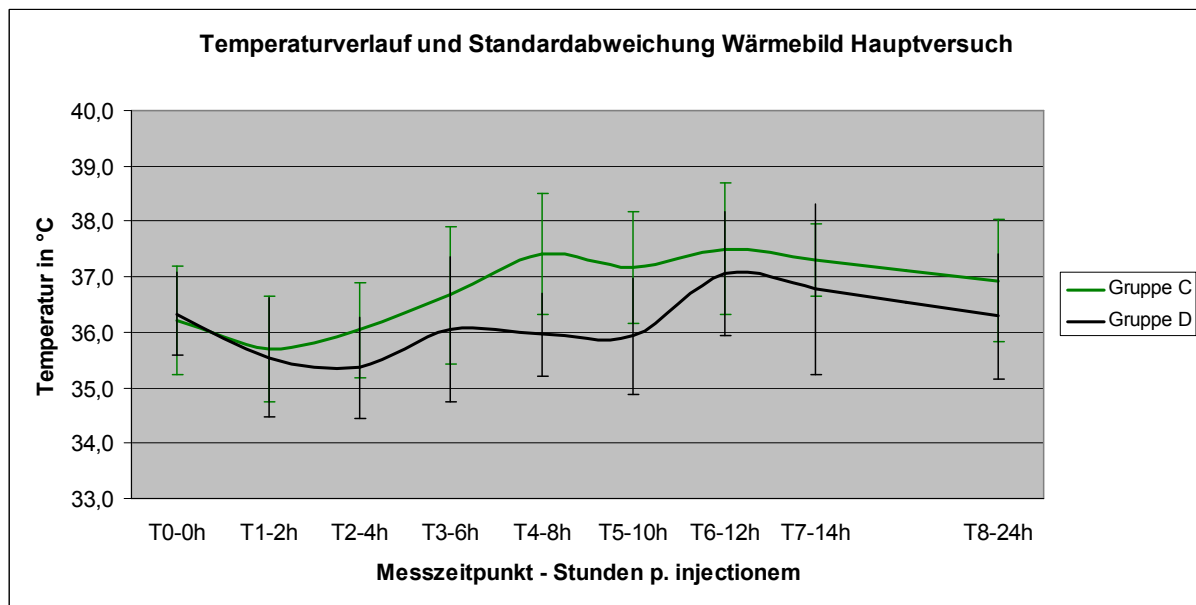


Abbildung 16: Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle sowie der dazugehörigen Standardabweichung bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 8 der Gruppen 1A und 2A sowie 1D und 2D, Parameter Wärmebild des Hauptversuches



**Abbildung 17:** Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle sowie der dazugehörigen Standardabweichung bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 8 der Gruppen 1B und 2B sowie 1D und 2D, Parameter Wärmebild des Hauptversuches



**Abbildung 18:** Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle sowie der dazugehörigen Standardabweichung bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 8 der Gruppen 1C und 2C sowie 1D und 2D, Parameter Wärmebild des Hauptversuches

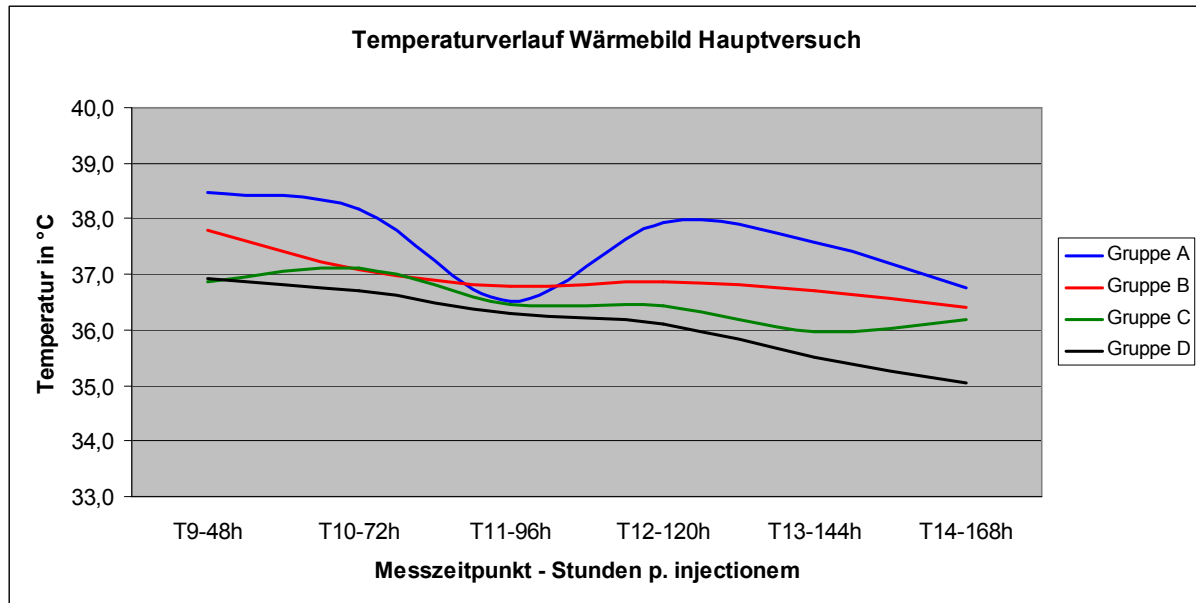


Abbildung 19: Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle bei den Messzeitpunkten T 9 bis T 14 der Gruppen 2A bis 2D, Parameter Wärmebild des Hauptversuches

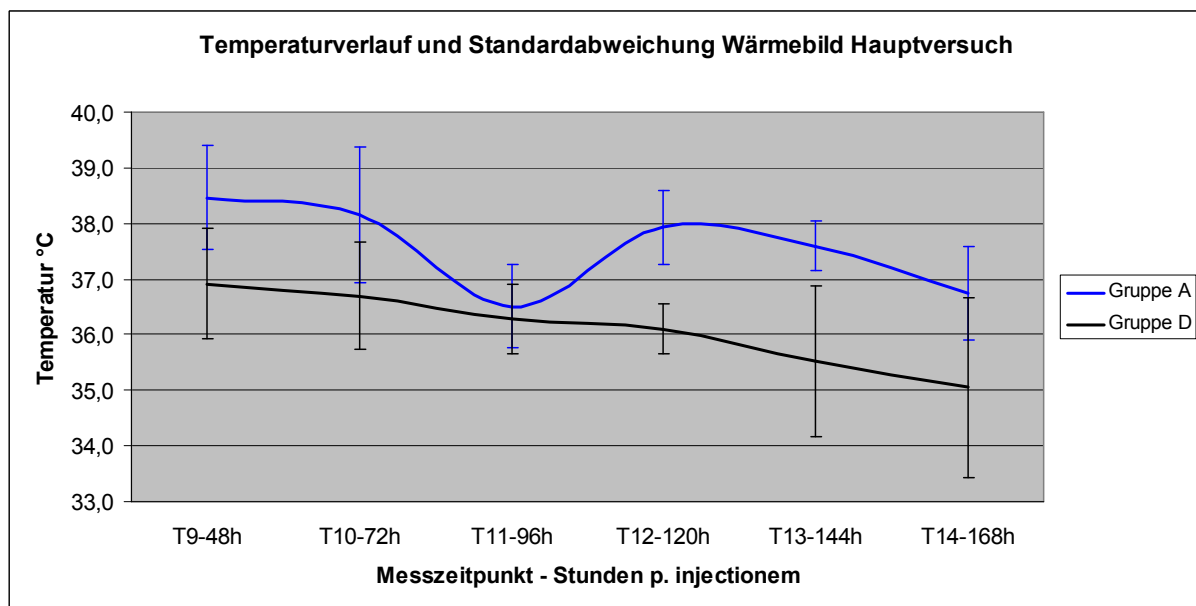
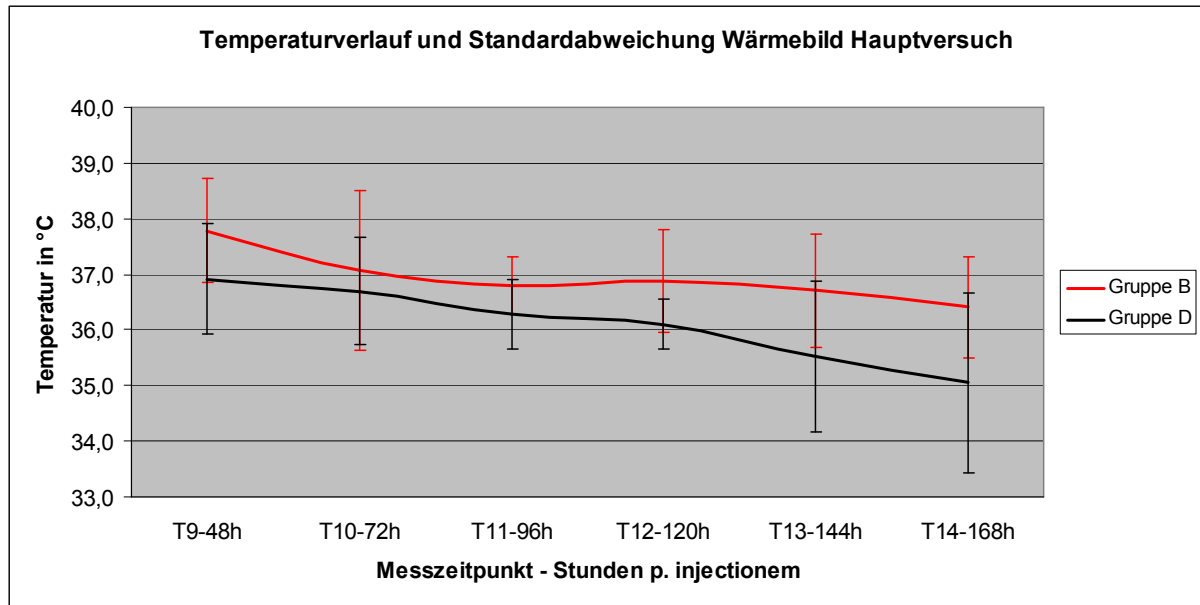
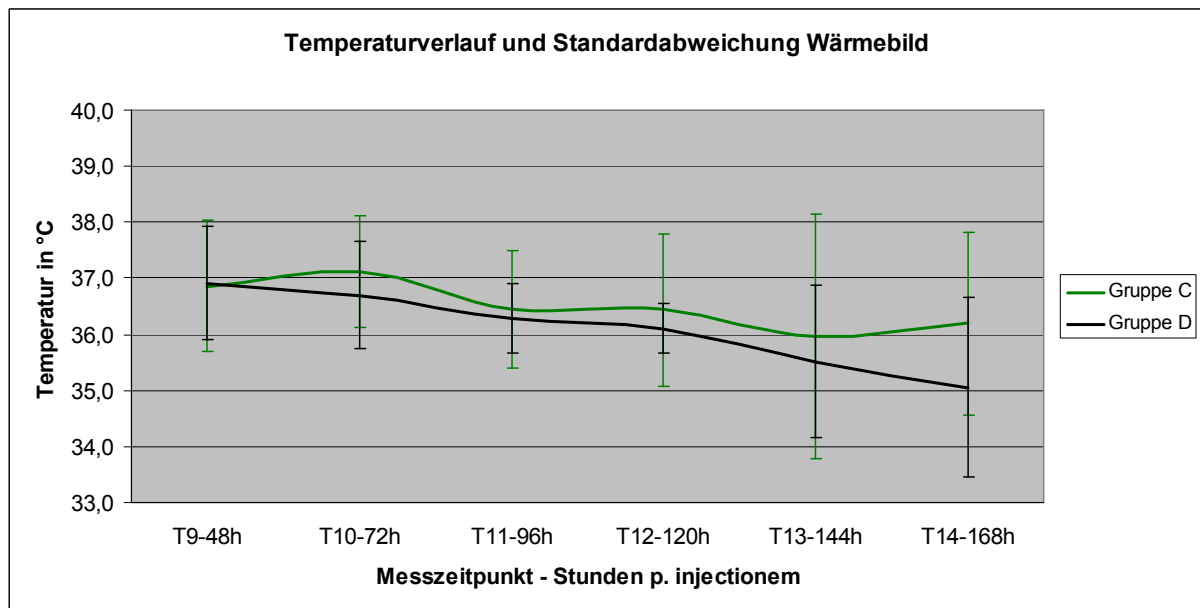


Abbildung 20: Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle sowie der dazugehörigen Standardabweichung bei den Messzeitpunkten T 9 bis T 14 der Gruppen 1A und 2A sowie 1D und 2D, Parameter Wärmebild des Hauptversuches



**Abbildung 21:** Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle sowie der dazugehörigen Standardabweichung bei den Messzeitpunkten T 9 bis T 14 der Gruppen 1B und 2B sowie 1D und 2D, Parameter Wärmebild des Hauptversuches



**Abbildung 22:** Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle sowie der dazugehörigen Standardabweichung bei den Messzeitpunkten T 9 bis T 14 der Gruppen 1C und 2C sowie 1D und 2D, Parameter Wärmebild des Hauptversuches

#### 4.2.2. Ergebnis Parameter Körperinnentemperatur

Bei den Tieren aus den **Gruppen 1A und 2A** sank der Mittelwert der rektal gemessenen Körperinnentemperatur beim ersten Messzeitpunkt nach der Impfung um 2°C ab, stieg bis zum nächsten Messzeitpunkt wieder um denselben Wert an. An den folgenden Messungen lag die Temperatur mit 39,3°C und 39,6°C auf Niveau der Ausgangstemperatur (T 0). Bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 8 konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen Impf- und Kontrollgruppe ermittelt werden.

Bei den Messzeitpunkten T 9 bis T 14 der **Gruppe 2A** pendelte die Temperatur von 39,5°C bis 39,8°C. Beim letzten Messzeitpunkt T 14 war zwischen der Gruppe 2A und der Kontrolluntergruppe D<sub>A</sub> ein signifikanter Unterschied zu beobachten.

Bei den Versuchstieren aus den Gruppen **1B und 2B** schwankte die Temperatur am ersten Versuchstag zwischen 39,5°C und 39,1°C.

Bei den Tieren der **Gruppe 2B** lag der Mittelwert der Körperinnentemperatur bei den Messzeitpunkten T 9 bis T 14 zwischen 39,5°C und 39,8°C. Bei den beiden Gruppen B konnte zu keinem Zeitpunkt ein signifikanter Unterschied zwischen Impf- und Kontrollgruppe festgestellt werden.

Der Temperaturmittelwert der **Gruppen 1C und 2C** stieg innerhalb von 4 Stunden von 39,7°C auf 40°C an, zwei Stunden später auf 41°C und sank bis zum Messzeitpunkt T 7 nicht unter 40°C. Nach 24 Stunden war die Temperatur wieder auf das Niveau vor der Impfung (T 0) abgesunken. Die Gruppen C unterschieden sich signifikant von der Kontrollgruppe D bei den Messzeitpunkten T 2 bis T 7 sowie gegenüber D<sub>C</sub> im Zeitraum T 2 bis T 5 und bei T 7.

Bei den Messzeitpunkten T 9 bis T 14 lag der gemessene Temperaturbereich zwischen 39,3°C und 39,6°C. Bei der **Gruppe 2C** bestanden keine signifikanten Unterschiede zur Kontrollgruppe.

Bei den Kontrolltieren der **Gruppen D** lagen die gemessenen Temperaturwerte im Mittel beider Hauptgruppen in den ersten 24 Stunden zwischen 39,2°C und 39,6°C.

Im Verlauf der weiteren Messungen erhöhte sich die gemittelte Temperatur der Kontrolltiere der zweiten Hauptgruppe auf bis zu 39,8°C am letzten Versuchstag.

Zusätzlich wurde die Korrelation und die Güte der Bindung bei den Parametern Wärmebild und Körperinnentemperatur berechnet. Demzufolge besteht kein Zusammenhang bzw. keine Bindung zwischen diesen Parametern.

Die Mittelwerte der jeweiligen Gruppe bei den einzelnen Messzeitpunkten sowie die dazugehörigen Standardabweichungen sind in den Tabellen 32 und 33 sowie in den Abbildungen 23 bis 30 dargestellt.

Die p-Werte des Parameters Körperinnentemperatur sind entsprechend denen beim Parameter Wärmebild (Punkt 4.2.1) berechnet worden und in den Tabellen 34 bis 39 zusammengefasst.

**Tabelle 32: Temperaturwerte und Standardabweichungen in °C bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 8, Gruppen 1A bis 1D und 2A bis 2D, Parameter Körperinnentemperatur des Hauptversuches**

Messzeitpunkt (MZP)		T 0	T 1	T 2	T 3	T 4	T 5	T 6	T 7	T 8
Stunden post injectionem		0	2	4	6	8	10	12	14	24
<b>Gruppen 1A, 2A</b>	MW	39,6	37,5	39,5	39,6	39,5	39,3	39,3	39,4	39,3
	SD	0,3	0,4	0,4	0,3	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
<b>Gruppen 1B, 2B</b>	MW	39,5	39,3	39,4	39,3	39,4	39,1	39,2	39,1	39,2
	SD	0,3	0,4	0,2	0,2	0,2	0,3	0,4	0,4	0,2
<b>Gruppen 1C, 2C</b>	MW	39,7	39,6	40,0	41,0	40,7	40,5	40,1	40,0	39,6
	SD	0,4	0,5	0,8	0,8	0,7	0,7	0,5	0,5	0,6
<b>Gruppen 1D, 2D</b>	MW	39,6	39,5	39,4	39,4	39,6	39,2	39,2	39,3	39,3
	SD	0,4	0,5	0,3	0,3	0,4	0,4	0,5	0,5	0,2

**Tabelle 33: Temperaturwerte und Standardabweichungen in °C bei den Messzeitpunkten T 9 bis T 14, Gruppen 2A bis 2D, Parameter Körperinnentemperatur des Hauptversuches**

Messzeitpunkt (MZP)		T 9	T 10	T 11	T 12	T 13	T 14
Stunden post injectionem		48	72	96	120	144	168
<b>Gruppe 2A</b>	MW	39,8	39,5	39,7	39,7	39,7	39,7
	SD	0,4	0,2	0,2	0,3	0,2	0,3
<b>Gruppe 2B</b>	MW	39,6	39,5	39,6	39,6	39,5	39,8
	SD	0,4	0,3	0,1	0,3	0,2	0,2
<b>Gruppe 2C</b>	MW	39,3	39,3	39,4	39,4	39,5	39,6
	SD	0,4	0,4	0,4	0,4	0,6	0,5
<b>Gruppe 2D</b>	MW	39,6	39,3	39,6	39,7	39,7	39,8
	SD	0,2	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2

**Tabelle 34: p-Werte des Vergleiches der Gruppen 1A bis 1D sowie 2A bis 2D bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 8, Parameter Körpertemperatur des Hauptversuches;  $p \leq 0,05$**

MZP	T 0				T 1				T 2			
Gruppen	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
A	-	0,987	0,782	0,996	-	0,842	0,896	1,000	-	0,930	<b>0,009</b>	0,991
B	0,987	-	0,584	0,953	0,842	-	0,427	0,853	0,930	-	<b>0,002</b>	0,993
C	0,782	0,584	-	0,913	0,896	0,427	-	0,928	<b>0,009</b>	<b>0,002</b>	-	<b>0,008</b>
D	0,996	0,953	0,913	-	1,000	0,853	0,928	-	0,991	0,993	0,008	-

MZP	T 3				T 4				T 5			
Gruppen	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
A	-	0,317	<b>0,000</b>	0,709	-	0,937	<b>0,000</b>	0,937	-	0,640	<b>0,000</b>	0,948
B	0,317	-	<b>0,000</b>	0,950	0,937	-	<b>0,000</b>	0,677	0,640	-	<b>0,000</b>	0,945
C	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	-	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	-	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	-	<b>0,000</b>
D	0,709	0,950	<b>0,000</b>	-	0,937	0,677	<b>0,000</b>	-	0,948	0,945	<b>0,000</b>	-

MZP	T 6				T 7				T 8			
Gruppen	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
A	-	0,834	<b>0,000</b>	0,915	-	0,383	<b>0,005</b>	0,858	-	0,961	0,059	0,986
B	0,834	-	<b>0,000</b>	0,999	0,383	-	<b>0,000</b>	0,898	0,961	-	<b>0,017</b>	0,856
C	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	-	<b>0,000</b>	<b>0,005</b>	<b>0,010</b>	-	<b>0,001</b>	0,059	<b>0,017</b>	-	0,185
D	0,915	0,999	<b>0,000</b>	-	0,858	0,898	<b>0,001</b>	-	0,986	0,856	0,185	-

**Tabelle 35: p-Werte des Vergleiches der Gruppen 2A bis 2D bei den Messzeitpunkten T 9 bis T 14, Parameter Körpertemperatur des Hauptversuches;  $p \leq 0,05$**

MZP	T 9				T 10				T 11			
Gruppe	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
A	-	0,814	0,071	0,793	-	0,970	0,549	0,720	-	0,846	0,148	0,945
B	0,814	-	0,345	1,000	0,970	-	0,810	0,918	0,846	-	0,518	0,997
C	0,071	0,345	-	0,471	0,549	0,810	-	0,998	0,148	0,518	-	0,460
D	0,793	1,000	0,471	-	0,720	0,918	0,998	-	0,945	0,997	0,460	-

MZP	T 12				T 13				T 14			
Gruppe	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
A	-	0,848	0,245	0,999	-	0,827	0,682	1,000	-	0,979	0,952	0,983
B	0,848	-	0,688	0,933	0,827	-	0,993	0,884	0,979	-	0,795	1,000
C	0,245	0,688	-	0,387	0,682	0,993	-	0,765	0,952	0,795	-	0,830
D	0,999	0,933	0,387	-	1,000	0,884	0,765	-	0,983	1,000	0,830	-



**Tabelle 36: p-Werte des Vergleiches der Gruppen 1A bis 1C und 2A bis 2C mit der Kontrollgruppe 1D und 2D und den dazu gehörigen Kontrolluntergruppen 1D<sub>A-C</sub> und 2D<sub>A-C</sub> bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 8, Parameter Körpertemperatur des Hauptversuches;  $p \leq 0,017$**

MZP	T 0	T 1	T 2	T 3	T 4	T 5	T 6	T 7	T 8
<b>Gruppen A - D</b>	0,832	0,971	0,663	0,121	0,493	0,491	0,549	0,427	0,671
<b>Gruppen A - D<sub>A</sub></b>	0,626	0,758	0,675	0,940	0,287	0,596	0,938	0,987	0,573
<b>Gruppen B - D</b>	0,587	0,445	0,603	0,370	0,143	0,453	0,903	0,500	0,191
<b>Gruppe B - D<sub>B</sub></b>	0,896	0,430	0,445	0,564	0,535	0,569	0,482	0,271	0,940
<b>Gruppen C - D</b>	0,568	0,596	<b>0,009</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,001</b>	0,071
<b>Gruppen C - D<sub>C</sub></b>	0,124	0,317	<b>0,012</b>	<b>0,000</b>	<b>0,006</b>	<b>0,000</b>	0,064	<b>0,011</b>	0,229

**Tabelle 37: p-Werte des Vergleiches der Gruppen 2A bis 2C mit der Kontrollgruppe 2D und den dazu gehörigen Kontrolluntergruppen 2D<sub>A-C</sub> bei den Messzeitpunkten T 9 bis T 14, Parameter Körpertemperatur des Hauptversuches;  $p \leq 0,017$**

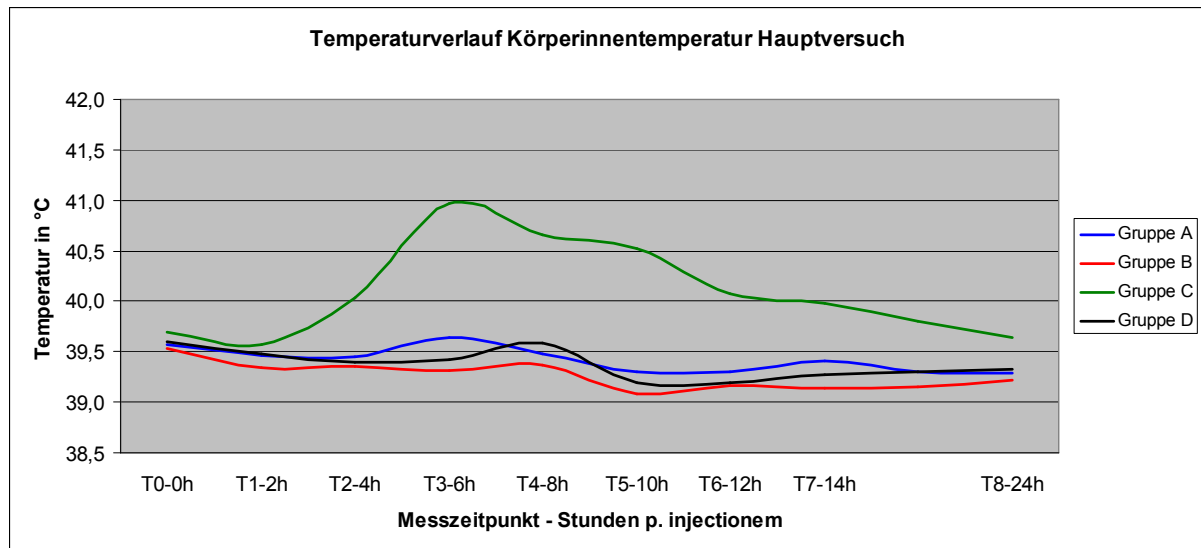
MZP	T 9	T 10	T 11	T 12	T 13	T 14
<b>Gruppe A - D</b>	0,295	0,195	0,595	0,843	0,931	0,627
<b>Gruppe A - D<sub>A</sub></b>	0,584	0,461	0,536	0,776	0,615	<b>0,006</b>
<b>Gruppe B - D</b>	0,900	0,478	0,835	0,430	0,265	1,000
<b>Gruppe B - D<sub>B</sub></b>	0,267	0,639	0,492	0,199	0,875	1,000
<b>Gruppe C - D</b>	0,114	0,872	0,267	0,129	0,436	0,476
<b>Gruppe C - D<sub>C</sub></b>	0,874	0,729	0,559	0,695	0,641	0,602

**Tabelle 38: p-Werte des Vergleiches der einzelnen Messzeitpunkte mit dem Ausgangswert und zwischen zwei aufeinander folgenden Messzeitpunkten, Messzeitpunkte T 0 bis T 8, Gruppen 1A bis 1D und 2A bis 2D sowie 1D<sub>A-C</sub> und 2D<sub>A-C</sub>, Parameter Körpertemperatur des Hauptversuches;  $p \leq 0,05$**

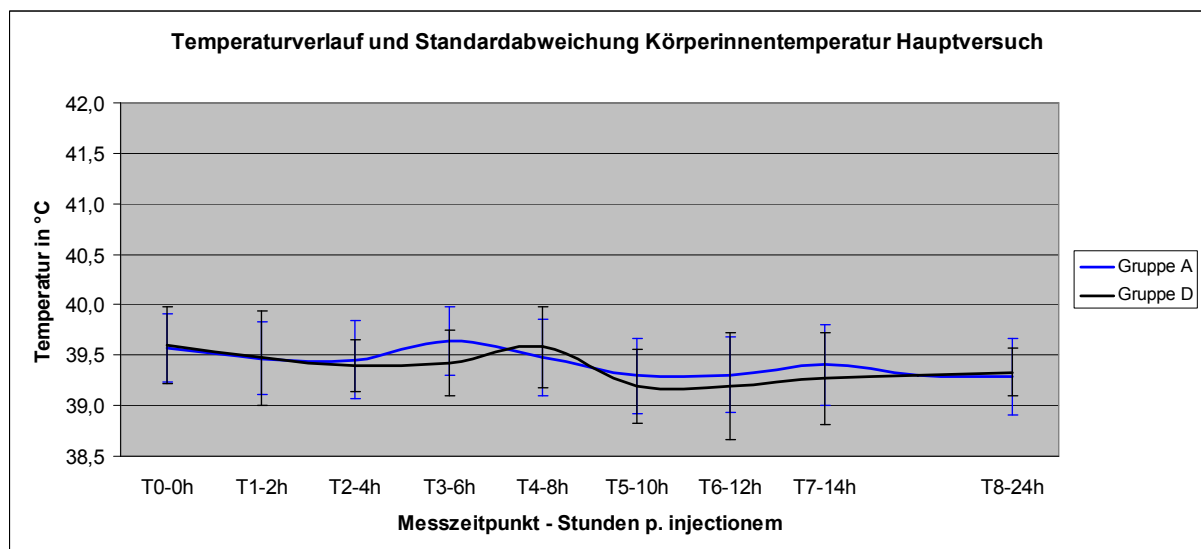
	Messzeitpunkte	p-Werte	Messzeitpunkte	p-Werte
<b>Gruppen A</b>				
	T 0 – T 1	0,304		
	T 0 – T 2	0,314	T 1 – T 2	0,885
	T 0 – T 3	0,498	T 2 – T 3	0,055
	T 0 – T 4	0,406	T 3 – T 4	0,065
	T 0 – T 5	<b>0,011</b>	T 4 – T 5	<b>0,045</b>
	T 0 – T 6	<b>0,023</b>	T 5 – T 6	0,850
	T 0 – T 7	0,126	T 6 – T 7	0,281
	T 0 – T 8	0,073	T 7 – T 8	0,337
<b>Gruppen B</b>				
	T 0 – T 1	<b>0,021</b>		
	T 0 – T 2	<b>0,033</b>	T 1 – T 2	0,942
	T 0 – T 3	<b>0,002</b>	T 2 – T 3	0,690
	T 0 – T 4	<b>0,032</b>	T 3 – T 4	0,397
	T 0 – T 5	<b>0,000</b>	T 4 – T 5	<b>0,000</b>
	T 0 – T 6	<b>0,000</b>	T 5 – T 6	0,237
	T 0 – T 7	<b>0,001</b>	T 6 – T 7	0,751
	T 0 – T 8	<b>0,010</b>	T 7 – T 8	0,632
<b>Gruppen C</b>				
	T 0 – T 1	0,147		
	T 0 – T 2	0,051	T 1 – T 2	<b>0,003</b>
	T 0 – T 3	<b>0,000</b>	T 2 – T 3	<b>0,000</b>
	T 0 – T 4	<b>0,000</b>	T 3 – T 4	<b>0,002</b>
	T 0 – T 5	<b>0,000</b>	T 4 – T 5	0,169
	T 0 – T 6	<b>0,000</b>	T 5 – T 6	<b>0,004</b>
	T 0 – T 7	<b>0,018</b>	T 6 – T 7	0,298
	T 0 – T 8	0,699	T 7 – T 8	<b>0,019</b>
<b>Gruppen D</b>				
	T 0 – T 1	0,082		
	T 0 – T 2	<b>0,019</b>	T 1 – T 2	0,549
	T 0 – T 3	0,181	T 2 – T 3	0,797
	T 0 – T 4	0,861	T 3 – T 4	0,080
	T 0 – T 5	<b>0,004</b>	T 4 – T 5	<b>0,004</b>
	T 0 – T 6	<b>0,003</b>	T 5 – T 6	1,000
	T 0 – T 7	<b>0,006</b>	T 6 – T 7	0,403
	T 0 – T 8	0,068	T 7 – T 8	0,634
<b>Gruppen D<sub>A</sub></b>				
	T 0 – T 1	0,103		
	T 0 – T 2	0,320	T 1 – T 2	0,836
	T 0 – T 3	0,736	T 2 – T 3	0,423
	T 0 – T 4	0,444	T 3 – T 4	0,465
	T 0 – T 5	0,291	T 4 – T 5	0,205
	T 0 – T 6	<b>0,041</b>	T 5 – T 6	0,367
	T 0 – T 7	0,060	T 6 – T 7	<b>0,015</b>
	T 0 – T 8	0,270	T 7 – T 8	0,941
<b>Gruppen D<sub>B</sub></b>				
	T 0 – T 1	0,604		
	T 0 – T 2	0,102	T 1 – T 2	0,913
	T 0 – T 3	0,225	T 2 – T 3	0,328
	T 0 – T 4	0,555	T 3 – T 4	0,781
	T 0 – T 5	0,105	T 4 – T 5	0,798
	T 0 – T 6	<b>0,022</b>	T 5 – T 6	<b>0,006</b>
	T 0 – T 7	<b>0,022</b>	T 6 – T 7	0,248
	T 0 – T 8	0,314	T 7 – T 8	0,603
<b>Gruppen D<sub>C</sub></b>				
	T 0 – T 1	0,402		
	T 0 – T 2	0,342	T 1 – T 2	0,873
	T 0 – T 3	0,630	T 2 – T 3	0,922
	T 0 – T 4	1,000	T 3 – T 4	0,474
	T 0 – T 5	<b>0,006</b>	T 4 – T 5	0,241
	T 0 – T 6	0,529	T 5 – T 6	0,578
	T 0 – T 7	0,846	T 6 – T 7	0,547
	T 0 – T 8	0,519	T 7 – T 8	0,783

**Tabelle 39: p-Werte des Vergleiches der einzelnen Messzeitpunkte mit dem Ausgangswert und zwischen zwei aufeinander folgenden Messzeitpunkten, Messzeitpunkte T 9 bis T 14, Gruppen 2A bis 2D sowie 2D<sub>A-C</sub>, Parameter Körpertemperatur des Hauptversuches;  $p \leq 0,05$**

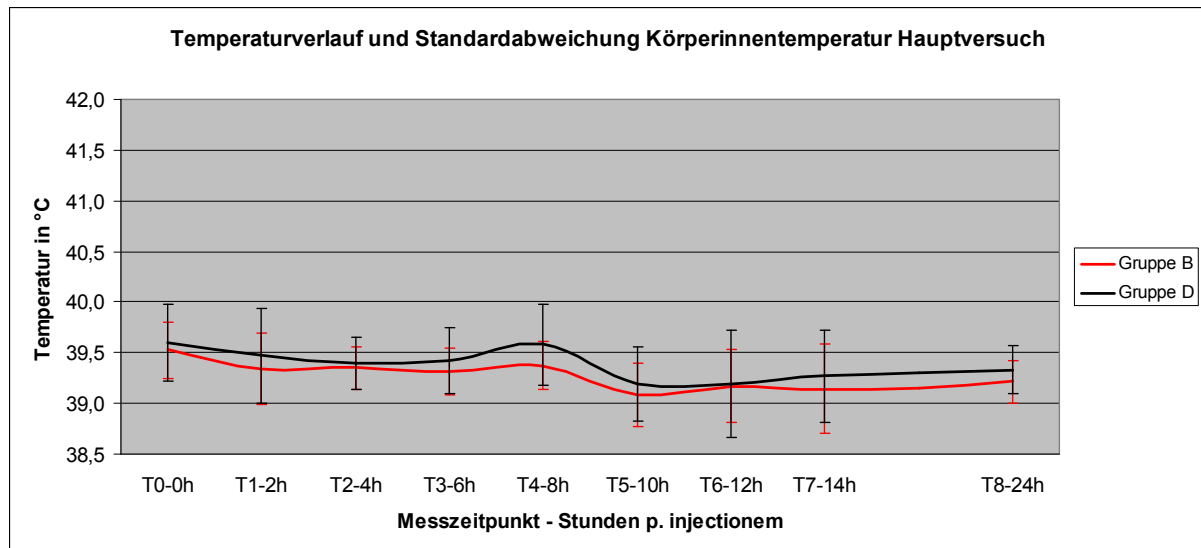
	Messzeitpunkte	p-Werte	Messzeitpunkte	p-Werte
<b>Gruppe A</b>				
	T 0 – T 9	<b>0,024</b>	T 8 – T 9	0,099
	T 0 – T 10	0,270	T 9 – T 10	0,088
	T 0 – T 11	0,090	T 10 – T 11	0,068
	T 0 – T 12	<b>0,045</b>	T 11 – T 12	0,923
	T 0 – T 13	0,058	T 12 – T 13	0,749
	T 0 – T 14	<b>0,030</b>	T 13 – T 14	0,503
<b>Gruppe B</b>				
	T 0 – T 9	<b>0,024</b>	T 8 – T 9	<b>0,031</b>
	T 0 – T 10	0,462	T 9 – T 10	0,246
	T 0 – T 11	<b>0,037</b>	T 10 – T 11	0,250
	T 0 – T 12	<b>0,018</b>	T 11 – T 12	0,849
	T 0 – T 13	0,252	T 12 – T 13	0,549
	T 0 – T 14	<b>0,000</b>	T 13 – T 14	<b>0,050</b>
<b>Gruppe C</b>				
	T 0 – T 9	0,250	T 8 – T 9	0,176
	T 0 – T 10	<b>0,026</b>	T 9 – T 10	0,769
	T 0 – T 11	0,380	T 10 – T 11	0,340
	T 0 – T 12	0,262	T 11 – T 12	1,000
	T 0 – T 13	0,885	T 12 – T 13	0,716
	T 0 – T 14	0,244	T 13 – T 14	0,351
<b>Gruppe D</b>				
	T 0 – T 9	0,151	T 8 – T 9	0,267
	T 0 – T 10	0,771	T 9 – T 10	0,064
	T 0 – T 11	0,187	T 10 – T 11	<b>0,048</b>
	T 0 – T 12	<b>0,042</b>	T 11 – T 12	0,702
	T 0 – T 13	<b>0,042</b>	T 12 – T 13	0,816
	T 0 – T 14	<b>0,045</b>	T 13 – T 14	0,296
<b>Gruppe D<sub>A</sub></b>				
	T 0 – T 9	0,323	T 8 – T 9	0,258
	T 0 – T 10	1,000	T 9 – T 10	0,421
	T 0 – T 11	<b>0,049</b>	T 10 – T 11	<b>0,049</b>
	T 0 – T 12	0,126	T 11 – T 12	0,500
	T 0 – T 13	0,058	T 12 – T 13	0,795
	T 0 – T 14	0,111	T 13 – T 14	0,374
<b>Gruppe D<sub>B</sub></b>				
	T 0 – T 9	0,205	T 8 – T 9	0,090
	T 0 – T 10	1,000	T 9 – T 10	0,344
	T 0 – T 11	1,000	T 10 – T 11	1,000
	T 0 – T 12	0,070	T 11 – T 12	0,500
	T 0 – T 13	0,295	T 12 – T 13	0,344
	T 0 – T 14	0,070	T 13 – T 14	0,344
<b>Gruppe D<sub>C</sub></b>				
	T 0 – T 9	0,205	T 8 – T 9	0,500
	T 0 – T 10	0,374	T 9 – T 10	0,500
	T 0 – T 11	0,344	T 10 – T 11	0,500
	T 0 – T 12	1,000	T 11 – T 12	0,605
	T 0 – T 13	0,705	T 12 – T 13	0,844
	T 0 – T 14	1,000	T 13 – T 14	0,795



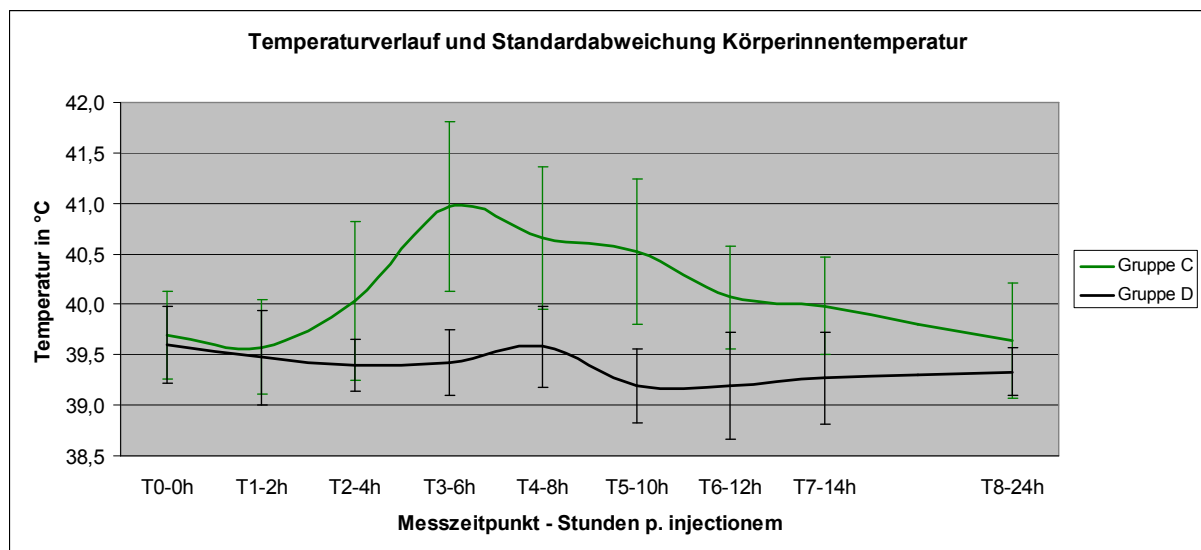
**Abbildung 23:** Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 8 der Gruppen 1A bis 1D und 2A bis 2D, Parameter Körperinnentemperatur des Hauptversuches



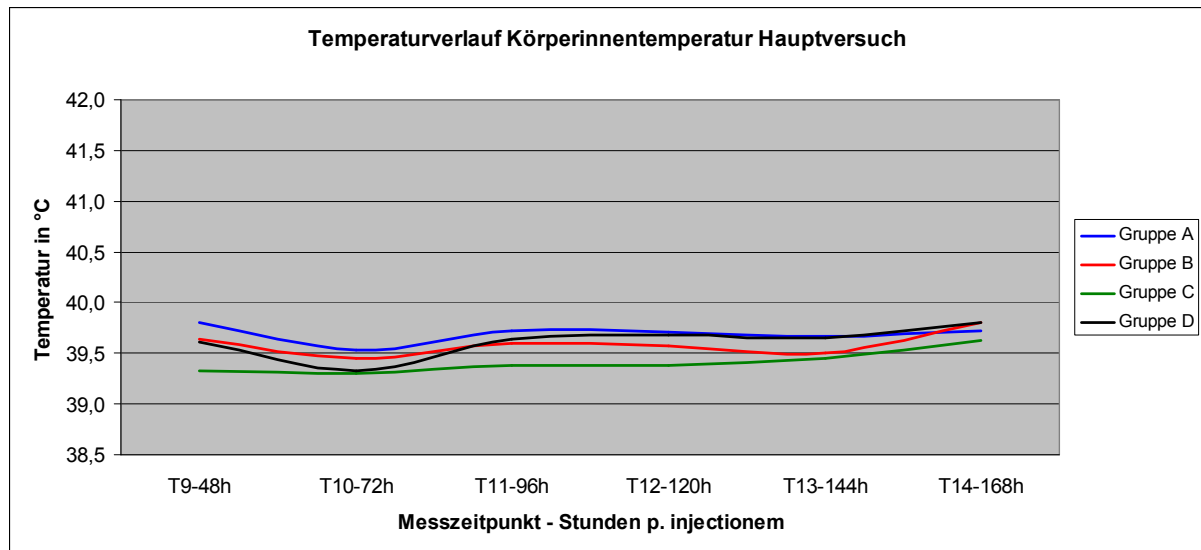
**Abbildung 24:** Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle sowie der dazugehörigen Standardabweichung bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 8 der Gruppen 1A und 2A sowie 1D und 2D, Parameter Körperinnentemperatur des Hauptversuches



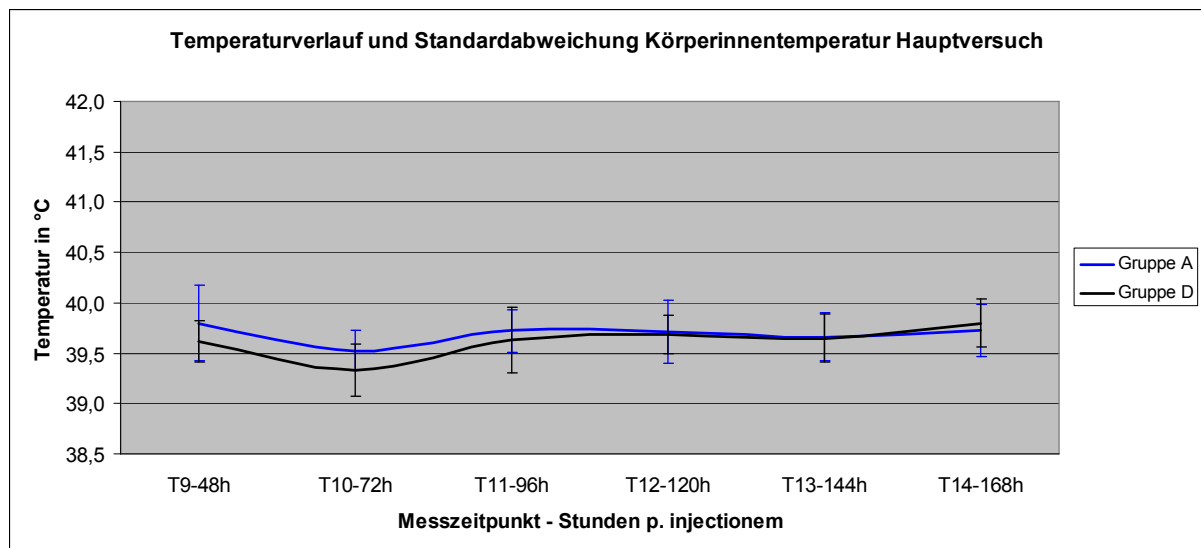
**Abbildung 25:** Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle sowie der dazugehörigen Standardabweichung bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 8 der Gruppen 1B und 2B sowie 1D und 2D, Parameter Körperinnentemperatur des Hauptversuches



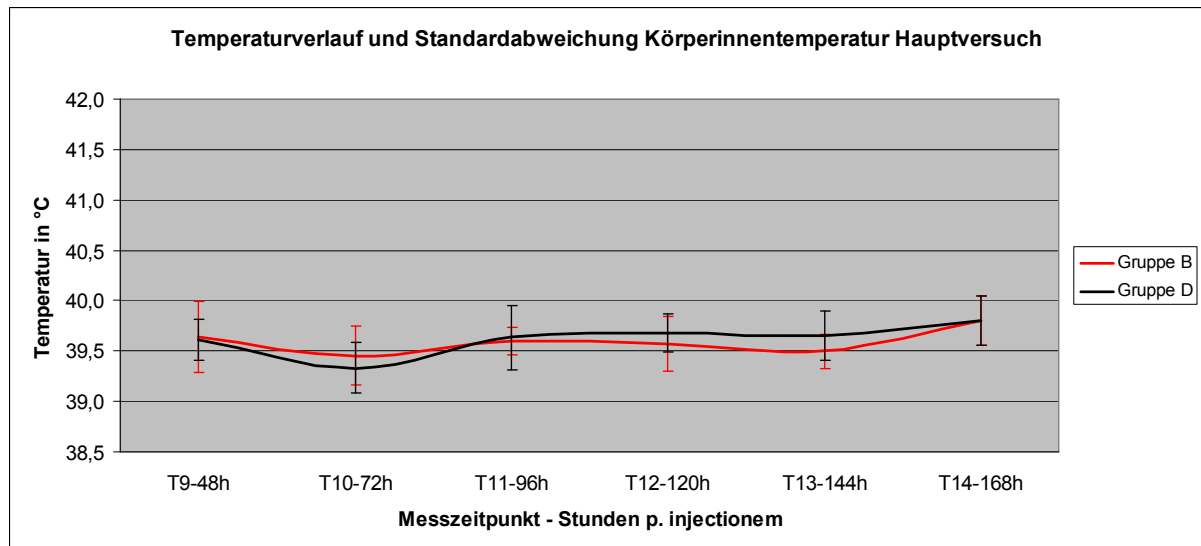
**Abbildung 26:** Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle sowie der dazugehörigen Standardabweichung bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 8 der Gruppen 1C und 2C sowie 1D und 2D, Parameter Körperinnentemperatur des Hauptversuches



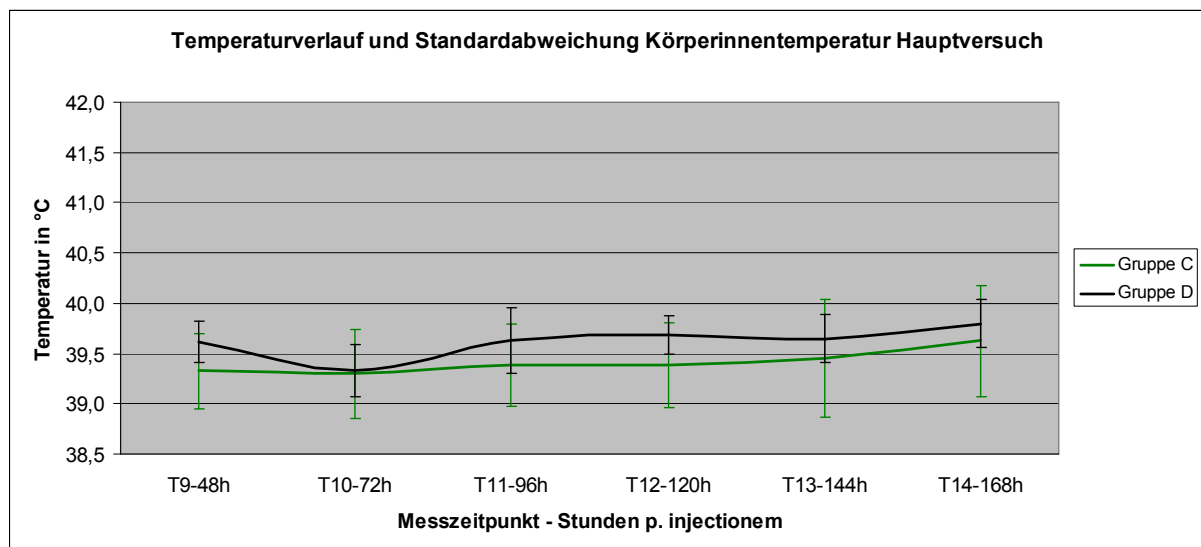
**Abbildung 27:** Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle bei den Messzeitpunkten T 9 bis T 14 der Gruppen 2A bis 2D, Parameter Körperinnentemperatur des Hauptversuches



**Abbildung 28:** Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle sowie der dazugehörigen Standardabweichung bei den Messzeitpunkten T 9 bis T 14 der Gruppen 1A und 2A sowie 1D und 2D, Parameter Körperinnentemperatur des Hauptversuches



**Abbildung 29:** Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle sowie der dazugehörigen Standardabweichung bei den Messzeitpunkten T 9 bis T 14 der Gruppen 1A und 2A sowie 1D und 2D, Parameter Körperinnentemperatur des Hauptversuches



**Abbildung 30:** Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle sowie der dazugehörigen Standardabweichung bei den Messzeitpunkten T 9 bis T 14 der Gruppen 1A und 2A sowie 1D und 2D, Parameter Körperinnentemperatur des Hauptversuches

#### 4.2.3. Ergebnis Score Allgemeinbefinden

Der Score Allgemeinbefinden lieferte keine vom physiologischen Zustand abweichenden Ergebnisse. Alle Tiere waren zu jedem Zeitpunkt vor, während und nach der Versuchsdurchführung ohne Auffälligkeiten bezüglich des Habitus und der Wasser-/ Futteraufnahme.

#### 4.2.4. Ergebnis Score lokale Gewebepalpation

Bei den **Gruppen 1A und 2A** traten bei 3 von 16 Tieren von T 3 bis T 5 geringgradige Schwellungen auf. Zum Zeitpunkt T 6 und T 7 war dies nur noch bei einem Tier der Fall. Zu einem späteren Zeitpunkt waren keinen Schwellungen feststellbar. Es traten zu keiner Zeit Rötungen an der Injektionsstelle auf.

Bei den beiden **Gruppen 1B und 2B** traten 4 bis 24 Stunden nach der Applikation geringgradige Schwellungen auf. Die meisten Veränderungen traten bei T 3 bzw. T 4 auf, hier waren es 9 bzw. 8 Tiere. Zu den späteren Zeitpunkten waren noch 2 bzw. 3 Tiere betroffen. Nach 24 Stunden konnten keine Veränderungen mehr festgestellt werden. Rötungen konnten zu keinem Zeitpunkt festgestellt werden.

Sowohl gering- als auch mittelgradige Schwellungen der Injektionsstelle traten bei den Tieren der **Gruppen 1C und 2C** auf. Von den 16 Tieren hatten nach 4 Stunden 5 Tiere geringgradige, ein Tier mittelgradige Schwellungen. Nach 6 Stunden waren es 11 bzw. 3 Tiere, 2 Stunden später 13 bzw. 3. Die Anzahl der Tiere mit geringgradiger Schwellung nahm bis zum Zeitpunkt T 8 kontinuierlich auf 7 Tiere ab, ab T 9 konnte bei keinem Tier eine Schwellung festgestellt werden. Eine mittelgradige Umfangsvermehrung war zum Zeitpunkt T 6 bei 2 Tieren vorhanden, zum Zeitpunkt T 7 bei einem Tier.

In Verbindung mit einer geringgradigen Schwellung der Applikationsstelle trat an den Messzeitpunkten T 3, T 4 und T 9 bei je einem Tier eine Rötung auf, bei T 8 waren es 3 Tiere. Bei einem Tier konnte zwölf Stunden (T 6) nach Versuchsbeginn eine Rötung der Injektionsstelle in Verbindung mit einer mittelgradigen Schwellung festgestellt werden.



In der Kontrollgruppe (**Gruppe 1D und 2D**) konnte nach vier, sechs und acht Stunden bei maximal drei Tieren eine geringgradige Veränderung beobachtet werden, bei einem Tier war dies nach einem Tag (T 8) der Fall. Rötungen wurden nicht beobachtet.

Eine detaillierte Übersicht über die Befunde beim Score „lokale Gewebepalpation“ geben die Tabellen 40 und 41.

**Tabelle 40: Anzahl der Tiere mit Veränderungen bzgl. des Kriteriums Schwellung im Score lokale Gewebepalpation Hauptversuch, Messzeitpunkte T 0 bis T 14, Hauptgruppen 1 und 2**

Score		Gruppe A T 0 bis T 8: 16 Tiere T 9 bis T 14: 8 Tiere				Gruppe B T 0 bis T 8: 16 Tiere T 9 bis T 14: 8 Tiere				Gruppe C T 0 bis T 8: 16 Tiere T 9 bis T 14: 8 Tiere				Gruppe D T 0 bis T 8: 12 Tiere T 9 bis T 14: 6 Tiere			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Messzeitpunkt (Hauptgruppe 1 und 2)	<b>T 0</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<b>T 1</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<b>T 2</b>	-	-	-	-	1	-	-	-	5	1	-	-	1	-	-	-
	<b>T 3</b>	3	-	-	-	9	-	-	-	11	3	-	-	3	-	-	-
	<b>T 4</b>	3	-	-	-	8	-	-	-	13	3	-	-	2	-	-	-
	<b>T 5</b>	3	-	-	-	2	-	-	-	11	-	-	-	-	-	-	-
	<b>T 6</b>	1	-	-	-	3	-	-	-	9	2	-	-	-	-	-	-
	<b>T 7</b>	1	-	-	-	2	-	-	-	8	1	-	-	-	-	-	-
Messzeitpunkt (Hauptgruppe 2)	<b>T 8</b>	-	-	-	-	1	-	-	-	7	-	-	-	1	-	-	-
	<b>T 9</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<b>T 10</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<b>T 11</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<b>T 12</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<b>T 13</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<b>T 14</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

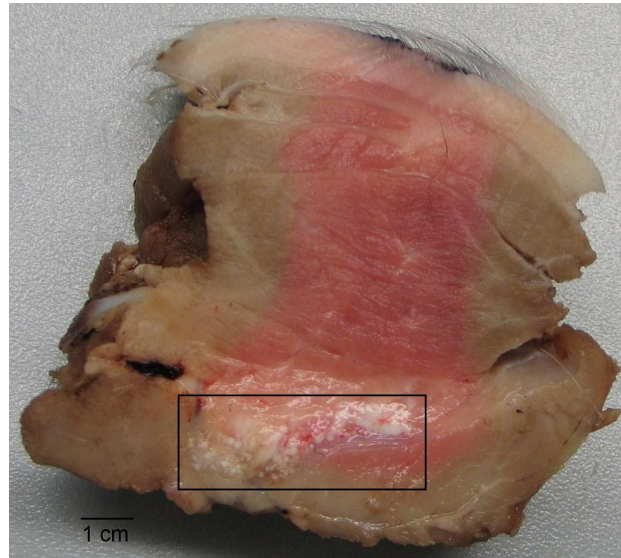
**Tabelle 41: Anzahl der Tiere mit Veränderungen bzgl. des Kriteriums Rötung im Score lokale Gewebepalpation Hauptversuch, Messzeitpunkte T 0 bis T 14, Hauptgruppen 1 und 2**

Score		Gruppe A T 0 bis T 8: 16 Tiere T 9 bis T 14: 8 Tiere				Gruppe B T 0 bis T 8: 16 Tiere T 9 bis T 14: 8 Tiere				Gruppe C T 0 bis T 8: 16 Tiere T 9 bis T 14: 8 Tiere				Gruppe D T 0 bis T 8: 12 Tiere T 9 bis T 14: 6 Tiere			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Messzeitpunkt (Hauptgruppe 1 und 2)	T 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	T 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	T 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	T 3	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
	T 4	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
	T 5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	T 6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
	T 7	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-
Messzeitpunkt (Hauptgruppe 2)	T 8	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
	T 9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	T 10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	T 11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	T 12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	T 13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	T 14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

#### 4.3 Pathologisch-anatomische Befunde

Bei der Sektion der Tiere wurden keine Veränderungen am Tierkörper und den Organen festgestellt. Der Gesundheitszustand der Versuchstiere laut klinischer Untersuchung und dem Score Allgemeinbefinden wurde somit bestätigt.

Bei der Entnahme der Gewebeproben wurde besonders auf makroskopisch erkennbare Veränderungen des Gewebes geachtet. Nach der Entnahme konnte bei 16 Tieren am Ende des Stichkanals der Impfkannüle in einer Tiefe von etwa 25mm eine weißlich-ölige, sich vom Applikationsort diffus ausbreitende Substanz festgestellt werden (Abbildung 31). Diese Beobachtung wurde ausschließlich bei Tieren der Gruppe 1B und 2B gemacht. Die Proben der 44 weiteren Tiere im Hauptversuch waren makroskopisch ohne erkennbare Veränderungen.



**Abbildung 31: makroskopischer Nachweis des Injektates**

#### **4.4 Histopathologische Befunde**

Die histologische Untersuchung der bei der Sektion entnommenen Gewebeproben von Leber, Lunge, Niere und Milz weist keine entzündlichen Veränderungen auf.

In den um die Injektionsregion entnommenen Proben aller Tiere aus den Impfgruppen (A, B, C) konnten entzündliche Veränderungen festgestellt werden.

Die Proben der Kontrollgruppe (D) wiesen keine histologisch erkennbaren Abweichungen vom physiologischen Zustand auf.

##### **4.4.1 Hauptlokalisation der Entzündungsreaktion**

Zur histopathologischen Untersuchung wurde von jedem Tier, wie unter Punkt 3.6.5.1 bis 3.6.5.3 beschrieben, die Probe mit dem höchsten Grad der Entzündung verwendet. In Tabelle 42 und 43 sind die Ergebnisse der Durchmusterung bzw. der Vorauswahl dargestellt. Die fett gedruckten Score-Stufen in Tabelle 42 und 43 symbolisieren die Hauptlokalisation der Entzündungsreaktion, diese Probe wurde zur weiteren Beurteilung verwendet. Bei einem „-“ wurde keine Entzündung festgestellt, der Grad an Entzündung wird durch die „+“ Zeichen symbolisiert, wobei „++++“ eine hochgradige Entzündung mit Gewebeuntergang bedeutet. Da bei den Proben der Kontrolltiere keine Veränderungen bei der Vorauswahl festgestellt wurden, war keine weitere histopathologische Beurteilung möglich bzw. erforderlich.

**Tabelle 42: Übersicht über die Gewebeprobe mit der Hauptlokalisation der Entzündungsreaktion in den Gewebeproben der Tiere aus Hauptgruppe 1 zur weiteren histopathologischen Untersuchung**

Ebene	1	2	3	4	5	6	7	8
Gruppe, Tier-Nr.								
<b>Gruppe A</b>								
1154	-	+	+++	+++	++			
1155	-	+	+++	+++	+++			
1156	+	++	+++	+++	+++			
1157	-	++	++	+++	+++	+++		
1158	+	++	+++	+++	++	++		
1159	+	++	++	+	+			
1160	+	+++	+++	+++				
1161	+	++	++	+++				
<b>Gruppe B</b>								
1162	++	++	+++	++++	+++			
1163	-	++	++	++				
1164	+	++	+++	++++	+++			
1165	+	++	++	++++	+++			
1166	-	++	++	+++	+++			
1167	+	+	++	+++	++++			
1168	+	+++	+++	++++	+++	+++		
1169	+	++	+++	+++	++	++		
<b>Gruppe C</b>								
1176	+	++	++	+++	+++	++		
1177	+	++	++	+++	++++	++++	+++	+++
1178	++	++	+++	+++	++++	++++	+++	+++
1179	+	++	+++	+++				
1180	+	++	+++	+++	+++	++		
1181	+	++	++	+++	+++	+++	+++	++
1182	+	+++	+++	++++	++++	+++	++	++
1183	++	+++	++++	++++	+++	+++		
<b>Gruppe D</b>								
1170	-	-	-	-	-			
1171	-	-	-	-	-			
1172	-	-	-	-	-			
1173	-	-	-	-	-			
1174	-	-	-	-	-	-	-	
1175	-	-	-	-	-			

**Tabelle 43: Übersicht über die Gewebeprobe mit der Hauptlokalisation der Entzündungsreaktion in den Gewebeproben der Tiere aus Hauptgruppe 2 zur weiteren histopathologischen Untersuchung**

Ebene	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Gruppe, Tier-Nr.										
<b>Gruppe A</b>										
904	+	+	++	+++						
905	+	+	++	+++	+					
1090	-	+	+	++	++	+				
1091	-	++	++	++	++					
1092	+	+	+	+++	++					
1093	+	++	++	+++	+					
1094	+	++	++	++	+	+	+			
1095	+	++	++	+++	++	+	+			
<b>Gruppe B</b>										
906	-	++	+++	+++	+++					
907	-	++	+++	+++						
1096	+	++	++	++	+					
1097	-	++	+	++	+	+				
1098	-	++	++	+	+++	+++				
1099	-	++	++++	+++	+++	+				
1100	-	++	+	++	+++					
1101	+	+	++	+++	+					
<b>Gruppe C</b>										
903	-	-	-	-	-	++	-			
910	-	-	++	++	+++	+	-			
911	++	+++	+++	++++	++++	+++	++			
912	-	++	+++	+++	++++					
1105	+	++	+	++	++	++	++++	+	+	
1110	-	+	+	+	++	++	++	++	+	+
1111	-	++	+++	+++	++++	+++	+++	++		
1113	-	+	+	++	++	+	++	+		
<b>Gruppe D</b>										
908	-	-	-	-						
909	-	-	-	-						
1102	-	-	-	-	-					
1103	-	-	-	-	-					
1104	-	-	-	-	-	-				
1112	-	-	-	-	-	-	-			

#### **4.4.2 Lokalisation und Intensität des Grades an Entzündung in der relevanten Gewebeprobe**

Die histopathologische Vorauswahl lieferte zusätzlich die Möglichkeiten, die Lokalisation, d.h. die Tiefe, einerseits und die Intensität, d.h. den Grad der höchsten Entzündung andererseits, zu bestimmen (Tabelle 44 und 45).

Bei den Tieren, die zur **Gruppe 1A** gehörten, war die Gewebeprobe mit dem höchsten Entzündungsgrad bei drei der acht Tiere in der Schnittebene 3, bei den restlichen Tieren in Ebene 4. Bei **Gruppe 2A** lag die relevante Gewebeprobe je eines Tieres in Ebene 2 bzw. 4, die restlichen sechs von insgesamt acht Proben lagen in Ebene 3. Dies entspricht gemäß der Tabelle 11 einer Tiefe von 15 bis 21 Millimetern unter der Hautoberfläche bei den Tieren der Hauptgruppe 1. Bei der zweiten Hauptgruppe lagen die untersuchungsrelevanten Gewebescheiben zwischen 9 bis 21 Millimetern unter der Hautoberfläche.

Bei den Tieren aus der **Gruppe 1B** wurde je eine Probe aus Ebene 2 und 6 und sechs Proben aus Ebene 4 zur histopathologischen Untersuchung verwendet. Bei der **Gruppe 2B** war es eine Probe aus Ebene 3, fünf Proben aus 4 und zwei Proben aus 5. Daraus ergibt sich für die Lokalisation der höchsten Entzündungsreaktion eine Tiefe von 9 bis 27 Millimeter bei der Gruppe 1B und eine Tiefe von 15 bis 27 Millimeter bei den Tieren aus Gruppe 2B.

Die histopathologische Auswertung fand bei den Tieren der **Gruppe 1C** anhand von einer Probe aus Ebene 3, zwei Proben aus Ebene 4 und fünf Proben aus Ebene 5 statt. Bei den Tieren aus der **Gruppe 2C** waren es je zwei Proben aus den Ebenen 4, 5 und 7 und je eine Probe aus den Ebenen 6 und 8. Die Tiefe betrug demzufolge in der Gruppe „1“ 15 bis 27 Millimeter und in der Gruppe „2“ 21 bis 45 Millimeter.

**Tabelle 44: Lokalisation des höchsten Entzündungsgrades in Bezug auf die Schnittebene, Anzahl der Tiere je Gruppe in Bezug auf die Schnittebene mit dem höchsten Grad an Entzündung**

Schnittebene		1	2	3	4	5	6	7	8
Gruppeneinteilung	<b>Hauptgruppe 1</b> (8 Tiere pro Gruppe)								
	<b>Gruppe A</b>			3	5				
	<b>Gruppe B</b>		1		6	1			
	<b>Gruppe C</b>			1	2	5			
	<b>Hauptgruppe 2</b> (8 Tiere pro Gruppe)								
	<b>Gruppe A</b>		1	6	1				
	<b>Gruppe B</b>			1	5	2			
	<b>Gruppe C</b>				2	2	1	2	1

Die zur histopathologischen Untersuchung verwendeten Proben wiesen einen unterschiedlichen Grad an Entzündung auf (Tabelle 45).

In der **Gruppe 1A** wurde in sieben von acht Proben eine hochgradige Entzündung gemäß dem Score von Tabelle 12 festgestellt, in einer Probe konnte eine mittelgradige Entzündung diagnostiziert werden. Bei den ausgewerteten Proben der **Gruppe 2A** wiesen drei Tiere eine mittelgradige und fünf weitere eine hochgradige Entzündung auf.

Bei der **Gruppe 1B** war in einer der acht relevanten Gewebescheiben ein mittelgradiges Entzündungsgeschehen, bei zwei Gewebescheiben eine hochgradiges und bei den restlichen fünf Proben ein hochgradiges Entzündungsgeschehen mit Gewebeuntergang vorhanden. Die Proben aus **2B** wiesen zweimal mittelgradige und sechsmal hochgradige Entzündung auf.

In den acht Proben der **Gruppe 1C** stellte sich vier Mal eine hochgradige Entzündung und vier Mal eine hochgradige Entzündung mit Gewebeuntergang dar. Beim späteren Entnahmezeitpunkt (**2C**) wiesen drei Proben mittelgradige Entzündung auf, vier Proben hochgradige Entzündung und eine Probe hochgradige Entzündung mit Gewebeuntergang.

**Tabelle 45: Anzahl der Tiere je Gruppe in Bezug auf die Intensität der Entzündung in der untersuchten Gewebeprobe**

Intensität (höchster Entzündungsgrad)		+	++	+++	++++
Gruppeneinteilung	<b>Hauptgruppe 1 (8 Tiere pro Gruppe)</b>				
		<b>Gruppe A</b>	1	7	
		<b>Gruppe B</b>	1	2	5
		<b>Gruppe C</b>			
	<b>Hauptgruppe 2 (8 Tiere pro Gruppe)</b>				
		<b>Gruppe A</b>	3	5	
		<b>Gruppe B</b>	2	6	
		<b>Gruppe C</b>	3	4	1



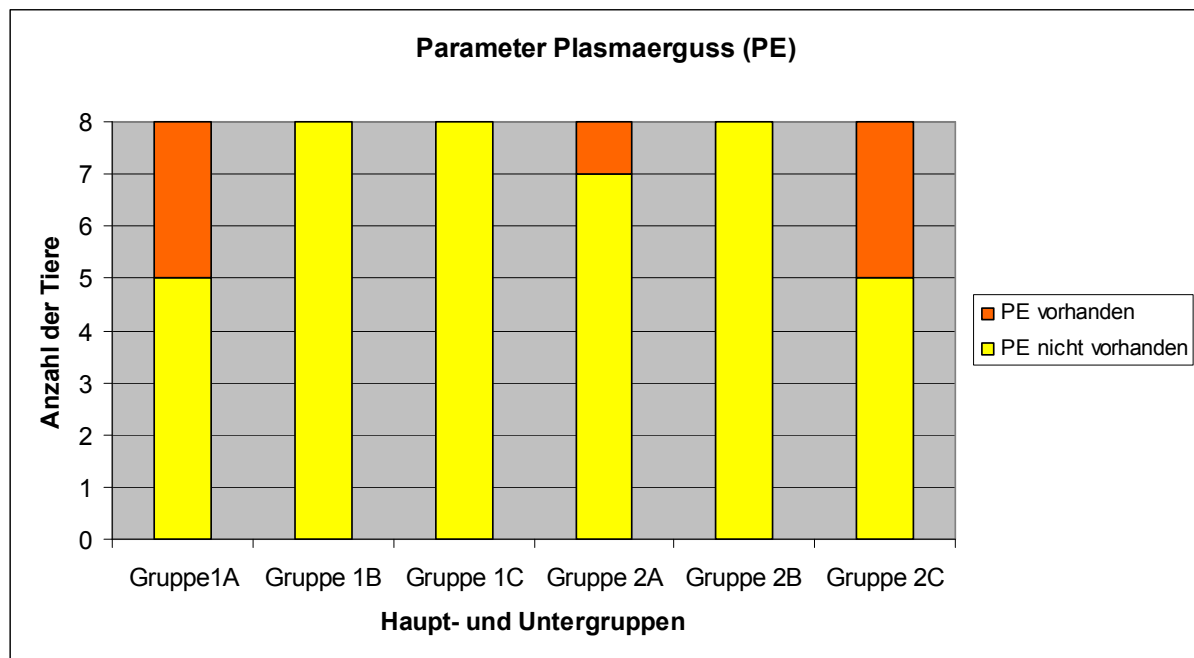
#### 4.4.3 Ergebnisse der Beurteilung der einzelnen Entzündungsparameter

Bei der histopathologischen Untersuchung wurden anhand der ausgewählten Gewebeprobe 12 verschiedene Parameter beurteilt.

Da die Proben aller Kontrolltiere histopathologisch unauffällig waren, werden im Folgenden nur die Ergebnisse der Impfgruppen 1A bis 1C und 2A bis 2C erläutert.

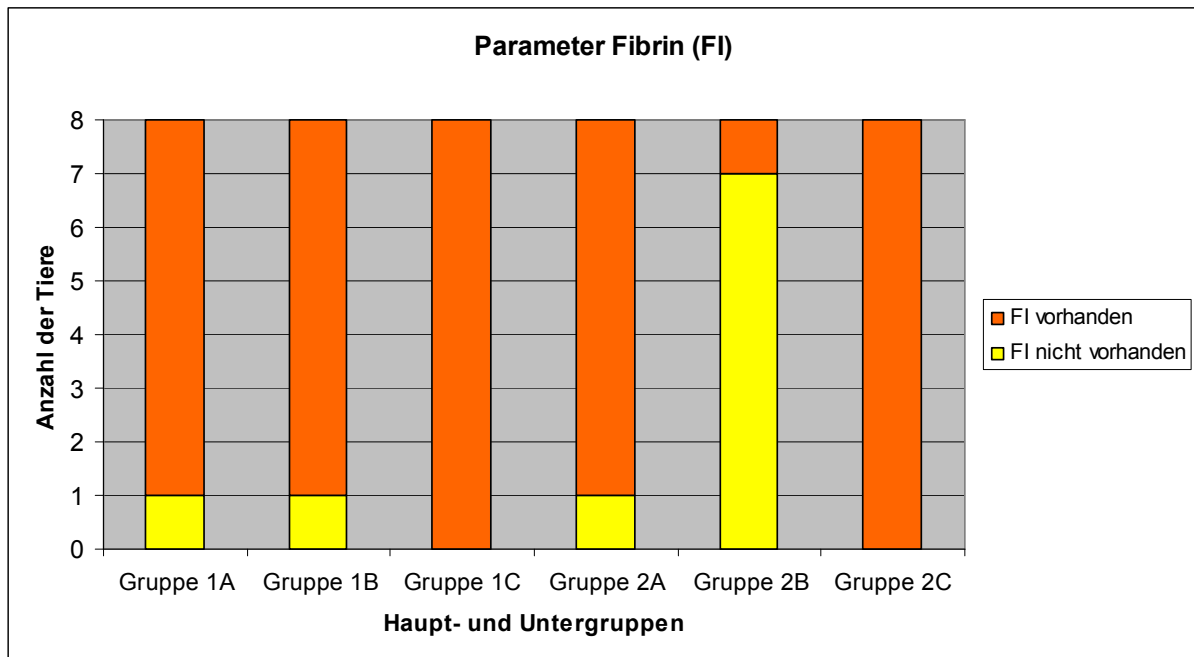
In der Hauptgruppe 1 konnte bei drei von acht Tieren der Untergruppe A ein **Plasmaerguss** festgestellt werden.

Bei der Hauptgruppe 2 war bei einem von acht Tieren aus der Gruppe A und bei drei von acht Tieren aus der Gruppe C ein Plasmaerguss vorhanden.



**Abbildung 32: Parameter Plasmaerguss der histopathologischen Untersuchung**

**Fibrin** wurde bei der Hauptgruppe 1 bei jeweils 7 von acht Tieren aus der Gruppe A und der Gruppe B nachgewiesen. Bei Gruppe C war dies bei allen Tieren der Fall. Bei den Tieren der Gruppe 2A konnte bei sieben der acht Tiere in dieser Gruppe Fibrin mikroskopisch nachgewiesen werden. Bei der Gruppe 2B konnte bei einem Tier, bei der Gruppe 2C bei allen acht Tieren Fibrin nachgewiesen werden.

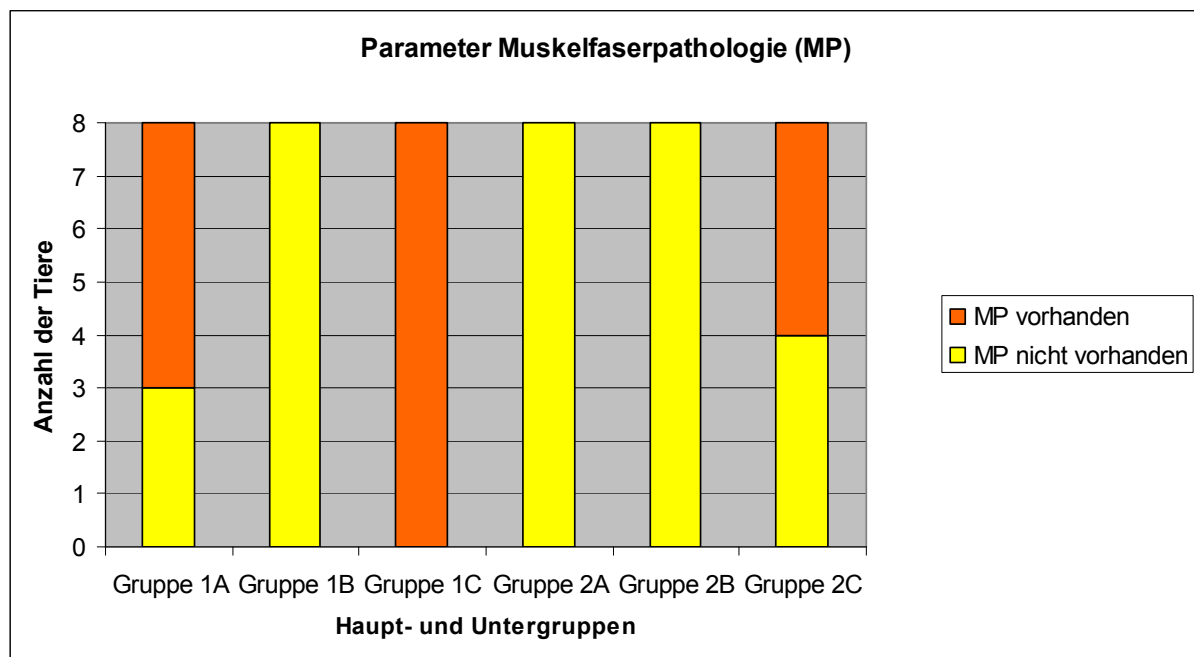


**Abbildung 33: Parameter Fibrin der histopathologischen Untersuchung**

Beim Parameter **Muskelfaserpathologie** wurden verschiedene pathologische Veränderungen, wie z.B. Muskelfasernekrosen, Muskelfaseratrophie und Fibrose, zusammengefasst.

Pathologische Veränderungen der Muskelfasern wurden bei allen acht Tieren der Gruppe 1C und bei fünf Tieren der Gruppe 1A festgestellt. In den Proben der Gruppe 1B konnte keine Muskelfaserpathologie festgestellt werden.

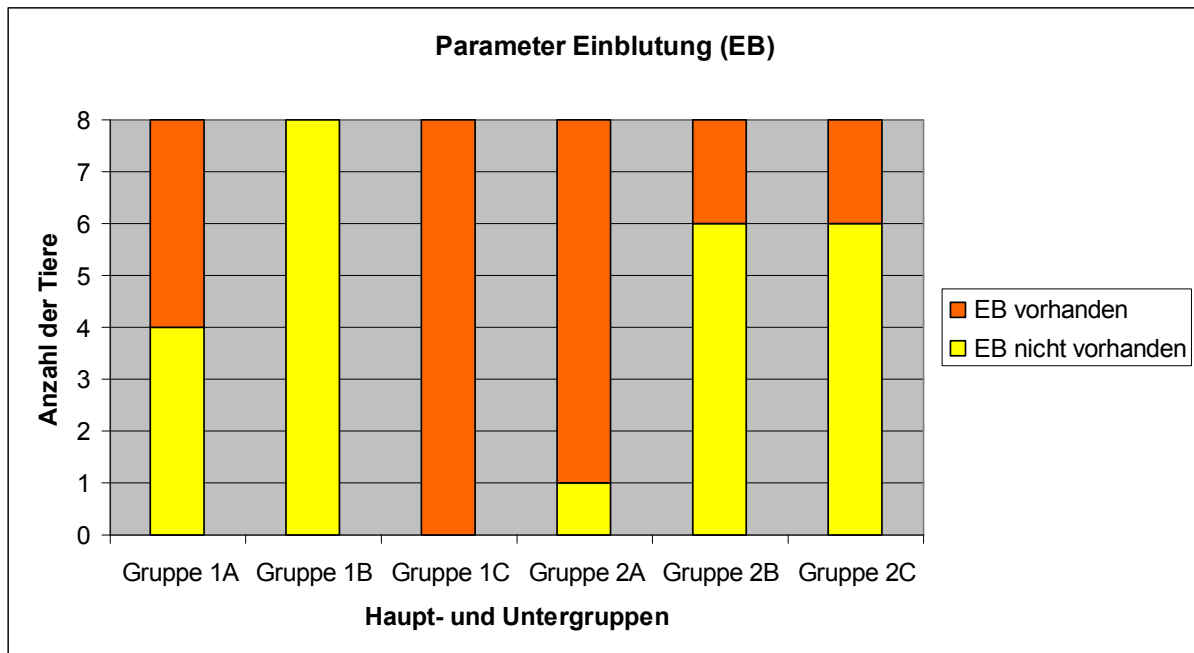
Bei der Gruppe 2C wies die Hälfte der Tiere pathologische Veränderungen im Muskelgewebe auf, in den Proben der Gruppen 2B und 2C waren keine Veränderungen erkennbar.



**Abbildung 34: Parameter Muskelfaserpathologie der histopathologischen Untersuchung**

**Einblutungen** in die Muskulatur waren in der Hauptgruppe 1 bei der Hälfte der Tiere aus Gruppe A und bei allen Tieren aus Gruppe C nachweisbar.

Bei Hauptgruppe 2 waren Einblutungen in die Muskulatur bei sieben von acht Tieren aus Gruppe A und bei je zwei Tieren in den anderen beiden Impfstoffgruppen B und C erkennbar.

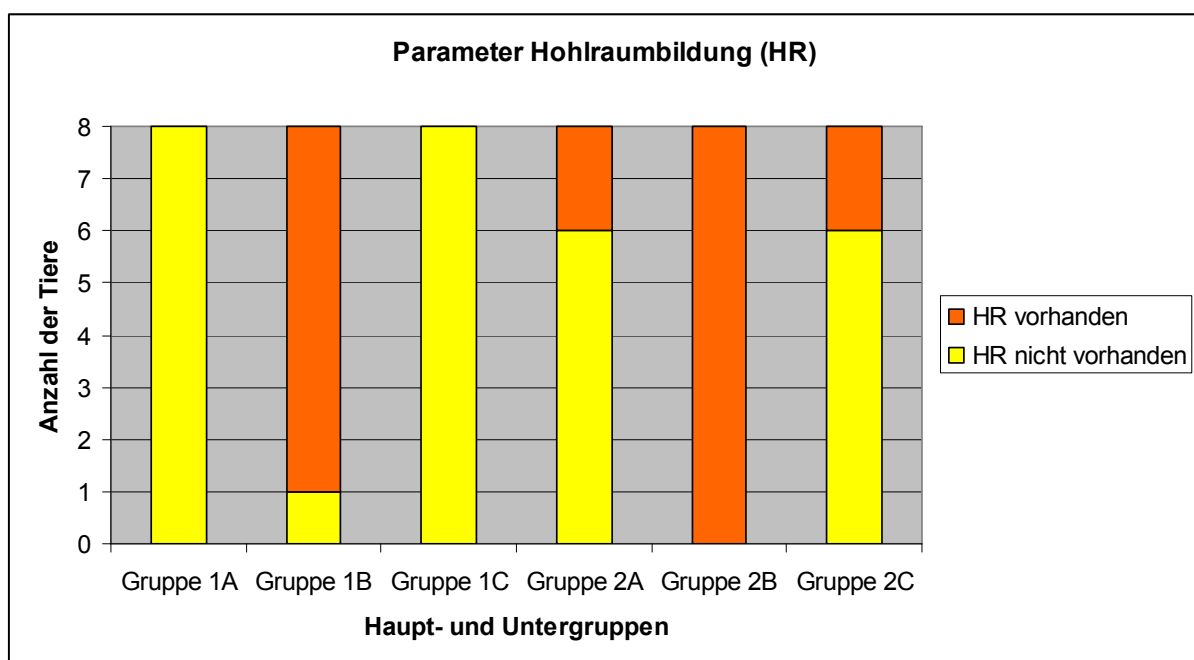


**Abbildung 35: Parameter Einblutung der histopathologischen Untersuchung**

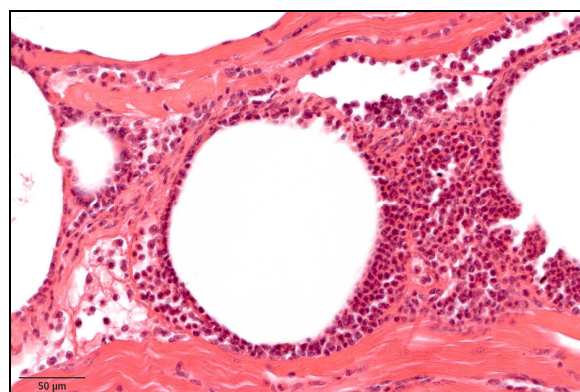
**Hohlraumbildungen** konnten in sieben Gewebeproben der Gruppe 1B beobachtet werden (Abbildung 37). Bei den Gruppen 1A und 1C konnte dies nicht beobachtet werden.

Bei der Hauptgruppe 2 war eine Hohlraumbildung bei je zwei von acht Proben aus den Gruppen A und C vorhanden. Die Proben der Gruppe B wiesen alle Hohlraumbildungen auf.

Abbildung 37 zeigt beispielhaft bei einem Tier der Gruppe 1B die Hohlraumbildung, umgeben von Monozyten.

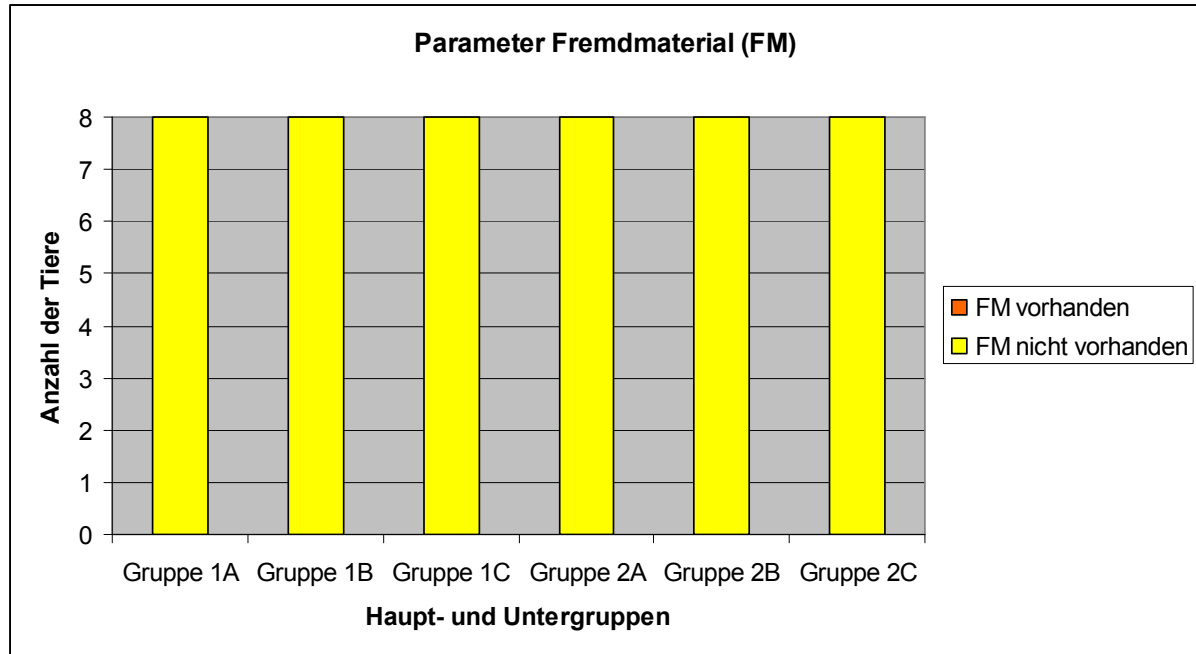


**Abbildung 36: Parameter Hohlraumbildung der histopathologischen Untersuchung**



**Abbildung 37: Hohlraumbildung bei einem Tier aus der Gruppe 1B**

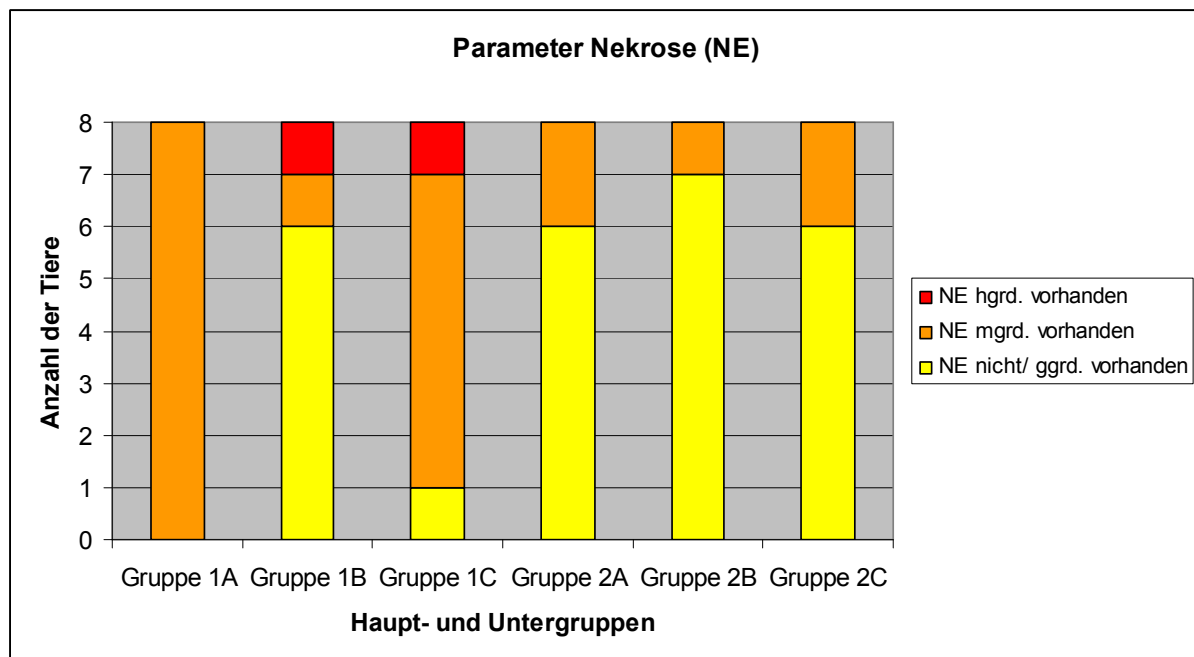
**Fremdmaterial** konnte in keiner der 48 Proben aus den Gruppen 1A bis 1C und 2A bis 2C nachgewiesen werden.



**Abbildung 38: Parameter Fremdmaterial der histopathologischen Untersuchung**

In den Gewebeproben der Gruppe 1A konnte durchgehend eine mittelgradig ausgedehnte **Nekrose** von Binde- und Muskelgewebe festgestellt werden. In der Gruppe 1B war überwiegend keine oder eine geringgradig ausgedehnte Nekrose, je ein Tier hatte mittel- bzw. hochgradig ausgedehnte nekrotische Veränderungen. In der Gruppe 1C reagierten die Tiere überwiegend mit mittelgradig ausgedehnter Nekrose, je ein Tier mit keiner bzw. geringgradig ausgedehnter Nekrose auf das Injektat.

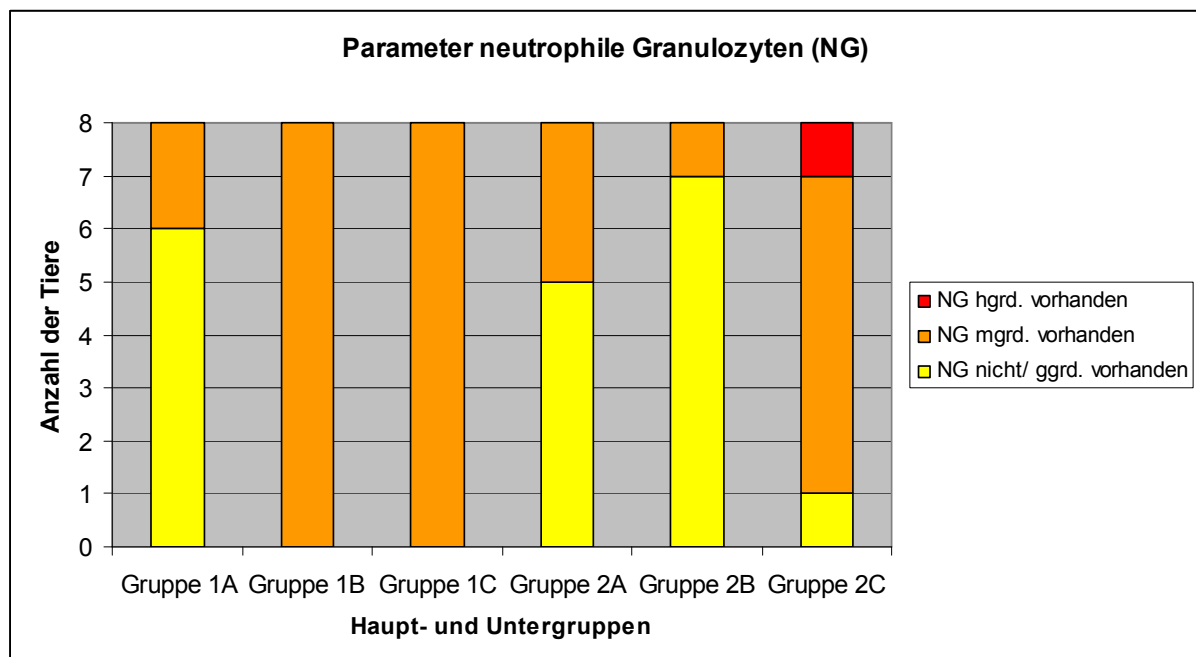
Bei der Hauptgruppe 2 konnten bei je sechs der acht Proben aus Gruppe A und Gruppe C keine oder nur geringgradig ausgedehnte nekrotische Veränderungen beobachtet werden, je zwei Proben hatten mittelgradig ausgedehnte Veränderungen. In den Proben der Gruppe B waren sieben ohne oder mit geringgradig ausgedehnter Nekrose, eine Probe hatte mittelgradig ausgedehnte nekrotische Veränderungen.



**Abbildung 39: Parameter Nekrose der histopathologischen Untersuchung**

**Neutrophile Granulozyten** waren in der Hauptlokalisation der Entzündungsreaktion bei allen Proben der Gruppen 1B und 1C in Relation zu den anderen vorhandenen Entzündungszellen mittelgradig in ihrer Anzahl erhöht, in den Proben von 1A konnte dies bei zwei von acht festgestellt werden.

In den Gewebeproben der Hauptgruppe 2 waren die neutrophilen Granulozyten bei fünf bzw. sieben Proben nicht bzw. geringgradig vorhanden, die restlichen Proben wiesen eine mittelgradig erhöhte Anzahl in Bezug zu den anderen beteiligten Entzündungszellen auf. Bei den Proben der Tiere aus Gruppe C waren in Relation sechs mittelgradig, die anderen beiden gering- oder hochgradig verändert.

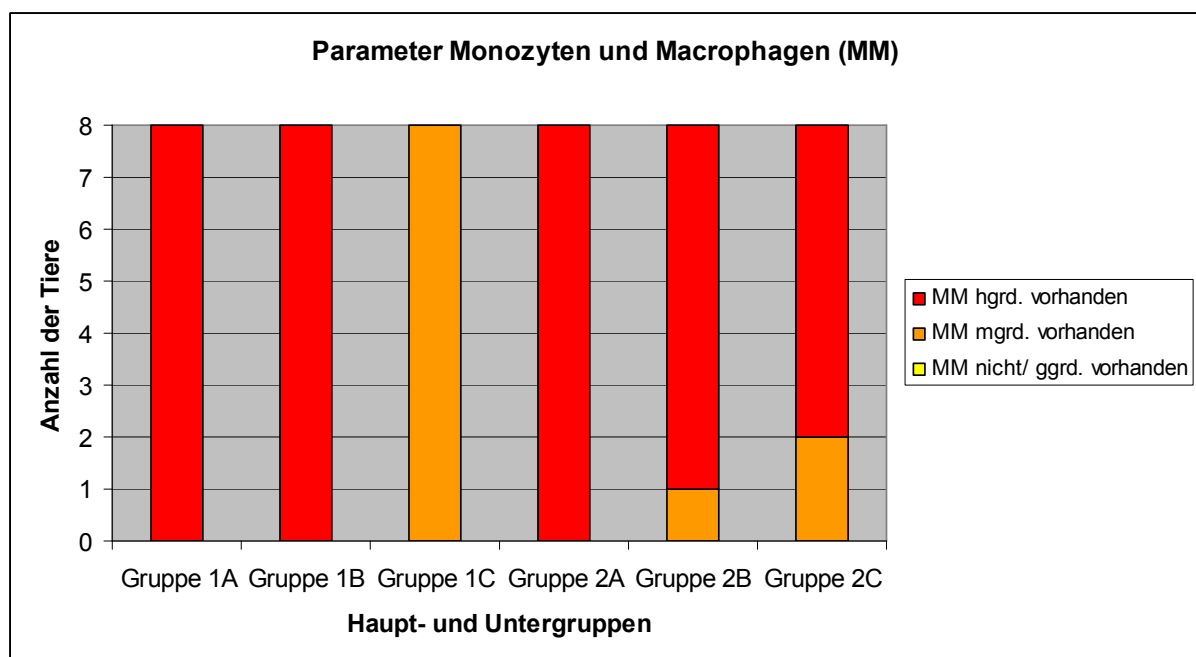


**Abbildung 40: Parameter neutrophile Granulozyten der histopathologischen Untersuchung**



In den Gewebeproben der Hauptgruppe 1 dominierten die **Monozyten und Macrophagen** das Entzündungsgeschehen bei allen Vertretern der Gruppen A und B. Bei Gruppe C waren diese Zellen durchgehend mittelgradig in Bezug auf die anderen Entzündungszellen erhöht.

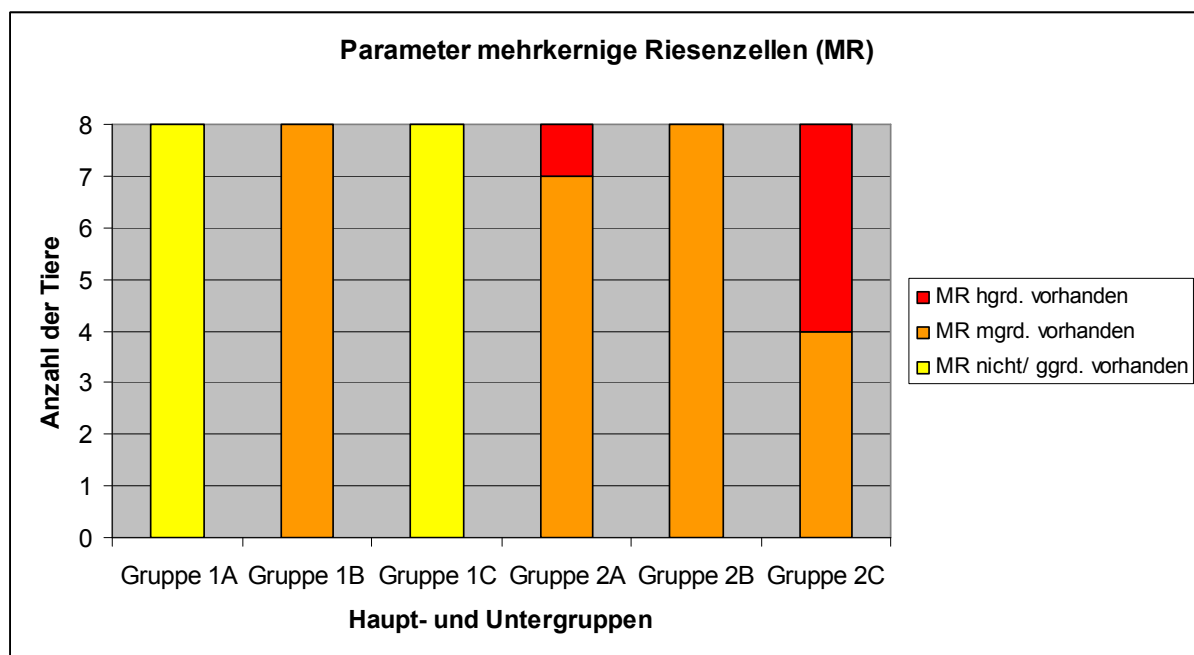
Bei der zweiten Hauptgruppe waren die Monozyten und Macrophagen in den Proben aller Tiere aus Gruppe A weiterhin dominierend. Bei Gruppe B waren die Zellen in Relation zu den anderen beteiligten Zellen bei sieben Proben hochgradig, in einer Probe mittelgradig erhöht. In sechs Proben der Gruppe C dominierten die Monozyten und Macrophagen das Entzündungsgeschehen, bei zwei Proben war deren Anzahl am Entzündungsgeschehen in Bezug auf die anderen Entzündungszellen mittelgradig erhöht.



**Abbildung 41: Parameter Monozyten und Macrophagen der histopathologischen Untersuchung**

**Mehrkernige Riesenzellen** traten in den Proben mit der Hauptlokalisation der Entzündungsreaktion bei den Gruppen 1A und 1C nicht oder geringgradig in Bezug auf die Anzahl anderer vorhandener Zellen auf. Bei der Gruppe B waren sie in Relation bei allen acht Proben mittelgradig erhöht vorhanden.

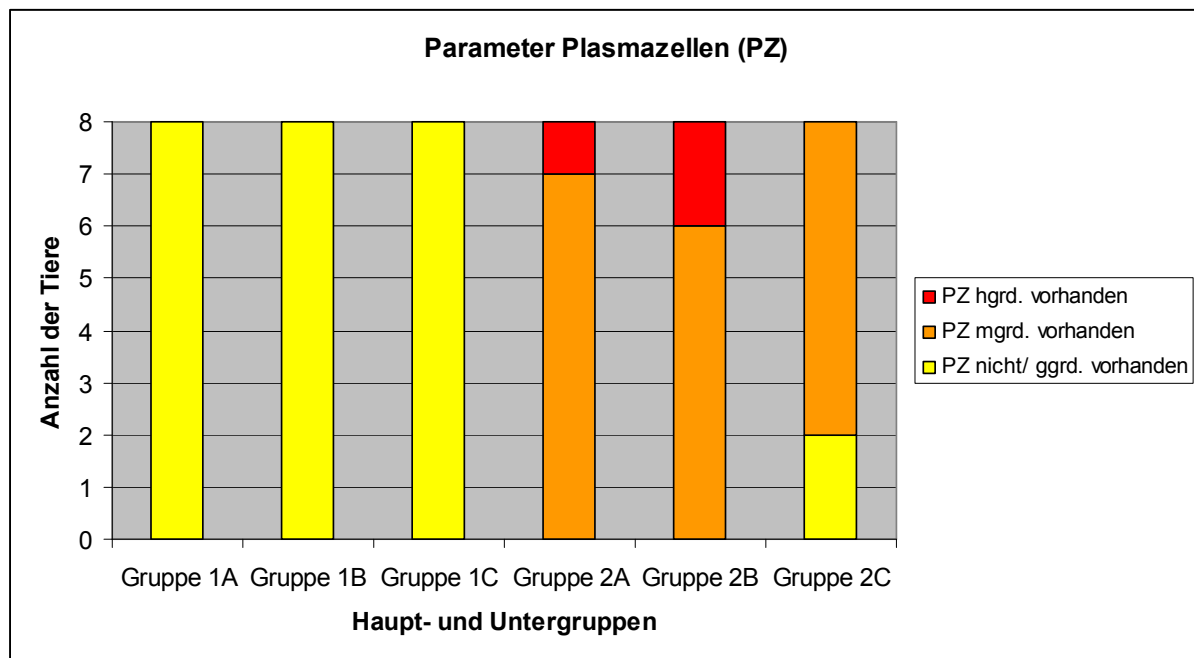
Bei der Hauptgruppe 2 waren bei einer Probe der Gruppe A und bei vier Proben der Gruppe C die Riesenzellen in dominierender Anzahl vorhanden. Bei den Gruppe B - Tieren kamen mehrkernige Riesenzellen in allen Proben in Relation mittelgradig erhöht vor.



**Abbildung 42: Parameter mehrkernige Riesenzellen der histopathologischen Untersuchung**

In keiner der Proben der Hauptgruppe 1 waren **Plasmazellen** am Entzündungsgeschehen der Hauptlokalisation beteiligt.

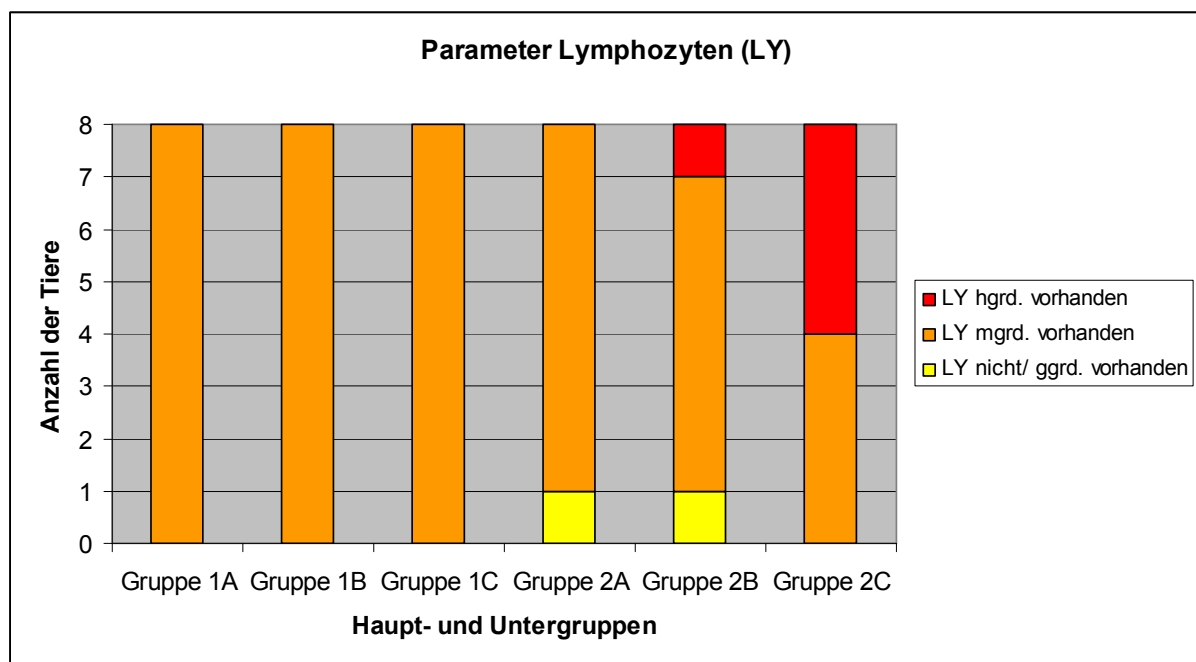
Bei der zweiten Hauptgruppe waren die Plasmazellen in sieben der acht Proben aus Gruppe A gegenüber der Anzahl der anderen vorhandenen Entzündungszellen mittelgradig erhöht, in einer Probe hochgradig. Bei der Gruppe B waren es sechs Proben, bei denen die Plasmazellen in Relation zu den anderen Entzündungszellen mittelgradig, und zwei Proben, in denen die Plasmazellen hochgradig erhöht vorkamen. In zwei der Proben aus Gruppe C waren die Plasmazellen in Relation nicht oder geringgradig vorhanden, die restlichen sechs Proben wiesen im Bezug auf die weiteren Entzündungszellen eine mittelgradig erhöhte Plasmazellzahl auf.



**Abbildung 43: Parameter Plasmazellen der histopathologischen Untersuchung**

**Lymphozyten** waren bei allen 24 Tieren der Hauptgruppe 1 in der Hauptentzündungsreaktion mittelgradig gegenüber den anderen Zellen der Entzündung erhöht.

Bei den Vertretern der Hauptgruppe 2 waren in sieben Gewebeproben der Gruppe A mittelgradige, in einer Probe keine oder geringgradige Lymphozytenzahlen feststellbar. Bei Gruppe B war eine Probe nicht oder geringgradig, sechs mittelgradig und eine hochgradig verändert. Die Lymphozyten waren in den Proben der Gruppe C je zur Hälfte mittel- bzw. hochgradig erhöht.



**Abbildung 44: Parameter Lymphozyten der histopathologischen Untersuchung**

In Abbildung 45 sind beispielhaft die histopathologischen Befunde der vier Untergruppen aus Hauptgruppe 1 (Euthanasie der Tiere nach 24 Stunden) dargestellt.

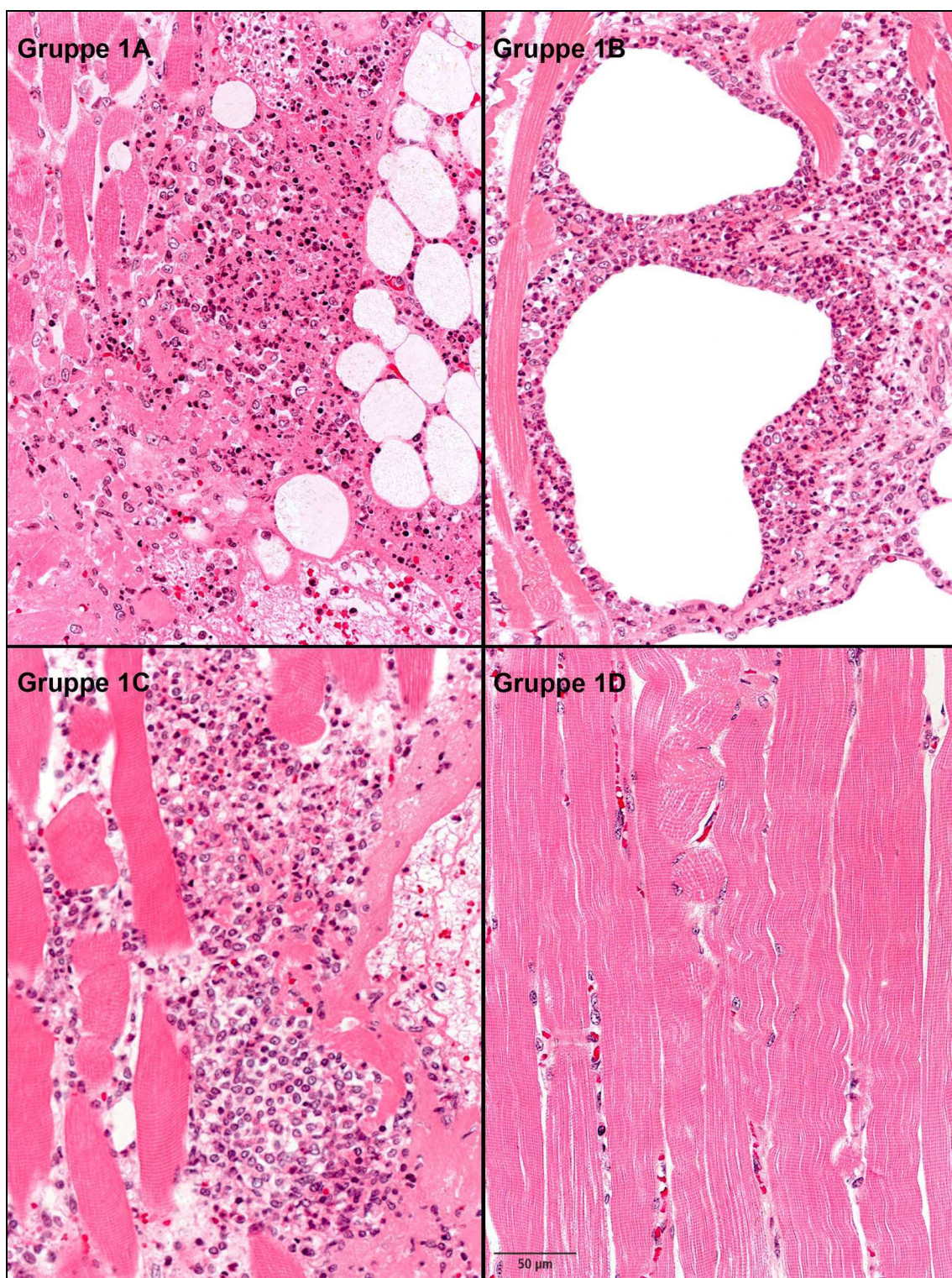
Bei den Gewebeproben der Tiere aus der **Gruppe 1A** (Abbildung 45 oben links; Injektion von Ingelvac CircoFLEX®) konnte in der mikroskopischen Übersichtsbetrachtung eine geringgradige entzündliche Infiltration des perimysialen Fett- und Bindegewebes unter Beteiligung von neutrophilen Granulozyten, Lymphozyten und einzelnen Macrophagen festgestellt werden. In der 40-fachen Vergrößerung derselben Proben stellte sich eine Gewebenekrose dar. In den Geweben war eine entzündliche Infiltration unter vorwiegend neutrophil-granulozytärer sowie lymphozytärer Beteiligung nachzuweisen, daneben waren einzelne Macrophagen zu finden.

In den Proben der Tiere aus der **Gruppe 1B** (Abbildung 45 oben rechts; Injektion von Ingelvac M.hyo®) waren in der Übersichtsbetrachtung bandartige Hohlraumbildungen im Peri- und Endomysium mit groß- und kleintropfiger Ausprägung und mittelgradig entzündlicher Infiltration in der Umgebung unter Beteiligung von Macrophagen, Lymphozyten und neutrophilen Granulozyten festzustellen.

Die Proben der **Gruppe 1C** (Abbildung 45 unten links; Injektion von Ingelvac Flu®) zeigten in beiden Betrachtungen mit niedriger und höherer Vergrößerung eine hochgradig ausgedehnte entzündliche Infiltration von Fett-, Binde- und Muskelgewebe unter Beteiligung von neutrophilen Granulozyten, Lymphozyten und Macrophagen. Es war eine Fibrininsudation vorhanden.

Bei den Tieren der **Kontrollgruppe 1D** (Abbildung 45 unten rechts; Injektion von isotonischer Kochsalzlösung) wiesen alle Proben eine monomorphe, vitale Skelettmuskulatur ohne Hinweise auf Muskelfaserdegeneration oder entzündliche Infiltration auf.





**Abbildung 45: Aufnahmen aus dem Lichtmikroskop (Kunststoffeinbettung, HE-Färbung) typischer histopathologischer Veränderungen, hervorgerufen durch die jeweiligen Injektate, Vergleich Hauptgruppe 1**

In Abbildung 46 sind beispielhaft die histopathologischen Befunde der vier Untergruppen aus Hauptgruppe 2 (Euthanasie der Tiere nach 168 Stunden bzw. sieben Tagen) dargestellt.

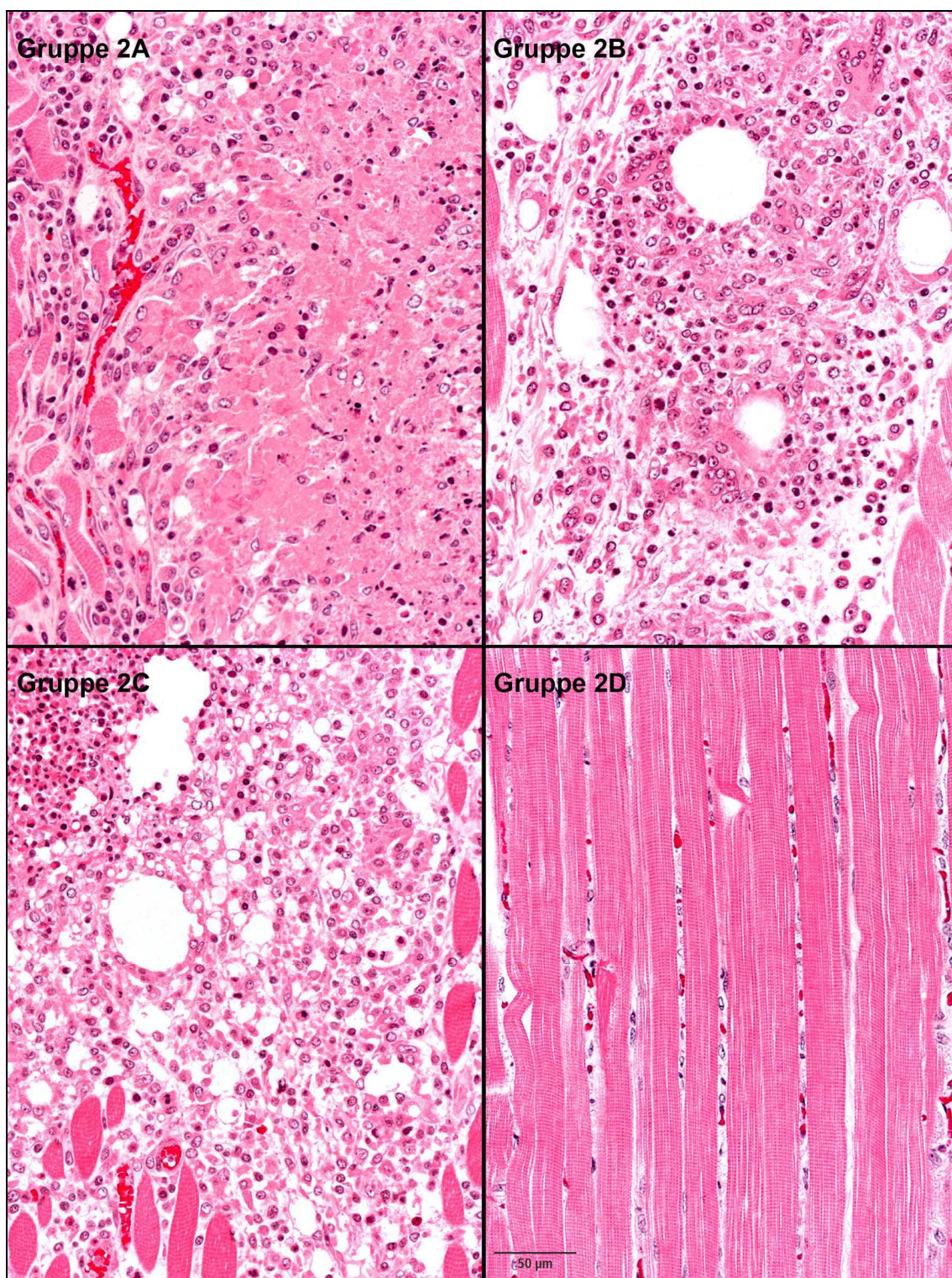
Die Gewebeproben der Tiere aus **Gruppe 2A** (Abbildung 46 oben links; Injektion von Ingelvac CircoFLEX®) zeigten eine mittelgradig entzündliche Infiltration des perimysialen Fett- und Bindegewebes unter Miteinbeziehung des angrenzenden Muskelgewebes mit Beteiligung von Lymphozyten, Macrophagen und einzelnen Plasmazellen. Die Vergrößerungs-betrachtung zeigte eine Gewebenekrose sowie eine entzündliche Infiltration unter Miteinbeziehung des angrenzenden Muskelgewebes mit Beteiligung von Lymphozyten, Macrophagen und einzelnen Plasmazellen.

Bei der Übersichtsaufnahme der Proben aus der **Gruppe 2B** (Abbildung 46 oben rechts; Injektion von Ingelvac M.hyo®) wurden multifokale, überwiegend großlumige Hohlräume, gesäumt von Macrophagen, daneben Lymphozyten und Plasmazellen beobachtet. Es konnten zahlreiche mehrkernige Riesenzellen vom Fremdkörpertyp festgestellt werden.

Die Proben der **Gruppe 2C** (Abbildung 46 unten links; Ingelvac Flu®) zeigten in beiden Betrachtungen mit niedriger und höherer Vergrößerung eine hochgradig ausgedehnte entzündliche Infiltration von Fett-, Binde- und Muskelgewebe unter Beteiligung von neutrophilen Granulozyten, Lymphozyten und Macrophagen. Es war eine Fibrininsudation vorhanden.

Bei den Tieren der **Kontrollgruppe 2D** (Abbildung 46 unten rechts; Injektion von isotonischer Kochsalzlösung) wiesen alle Proben eine monomorphe, vitale Skelettmuskulatur ohne Hinweise auf Muskelfaserdegeneration oder entzündliche Infiltration auf.





**Abbildung 46: Aufnahmen aus dem Lichtmikroskop (Kunststoffeinbettung, HE-Färbung)**  
typischer histopathologischer Veränderungen, hervorgerufen durch die jeweiligen Injektate,  
Vergleich Hauptgruppe 2



## 5 Diskussion

Ziel dieser Arbeit war es, eine vergleichende Untersuchung von Injektionsstellen mittels nicht-invasiver Thermographie und Histopathologie, ergänzt durch Klinische Untersuchung und lokale Gewebepalpation, durchzuführen. Anhand der Ergebnisse beider Verfahren sollte beurteilt werden, ob mit der Thermographie gleichwertige bzw. vergleichbare Aussagen gemacht werden können wie mit der histopathologischen Beurteilung der Injektionsstelle.

Hierzu wurden in zwei aufeinander folgenden Versuchen, die identisch aufgebaut waren, vier verschiedene Parameter (Wärmebildkamera, Körperinnentemperatur, Beurteilung des Allgemeinbefindens und Palpation der Injektionsstelle) beurteilt. Die Tiere des zweiten Versuches wurden an zwei unterschiedlichen Zeitpunkten nach Versuchsbeginn euthanasiert, um das Gewebe an der Injektionsstelle vollständig entnehmen und histopathologisch untersuchen zu können.

### 5.1 Parameter Wärmebildkamera

An Schweinen wurden bereits zahlreiche Studien zur Validierung der Wärmebildkamera als Möglichkeit der Ermittlung der lokalen Wärmeproduktion und deren Zusammenhang mit der Körperinnentemperatur bzw. pathologischen Befunden durchgeführt (SAVARY et al., 2008; GABRIEL, 2008; TRAULSEN et al., 2010). Diese drei Autoren kommen zu dem Ergebnis, dass die Thermographie nicht alleinig zur Diagnosestellung verwendet werden kann, da unter anderem zu viele Störfaktoren bei der Anfertigung der Thermogramme zu beachten seien. WARRISS et al. (2006) konnten hingegen einen Zusammenhang zwischen der Bluttemperatur und der mittels Thermographie ermittelten Innenohrtemperatur nachweisen.

In diesem Versuch sollte ein Zusammenhang zwischen der thermographisch lokal erfassten Temperatur und den histopathologischen Befunden des entsprechenden Gewebes nach Applikation von drei zugelassenen Impfstoffen, die auf verschiedenen Adjuvantien basierten, aufgezeigt werden.

Im **Vorversuch** konnte bei Gruppe A nach Applikation zunächst im Mittelwert ein leichter Anstieg der lokal gemessenen Temperatur beobachtet werden, bei späteren Messungen sank die Temperatur wieder ab, 24 Stunden nach Beginn lag die Temperatur deutlich unter Ausgangsniveau. Bei Gruppe B hingegen stieg die Temperatur im Mittel kontinuierlich bis 10 Stunden post injectionem an, der

Temperaturmittelwert nach 24 Stunden lag über dem Ausgangswert. Die Tiere der Gruppe C reagierten nach der Injektion des Impfstoffes am deutlichsten mit lokaler Wärmeproduktion auf die Impfung, es konnte zwischen 6 und 10 Stunden nach der Applikation ein konstant über 41°C hoher Temperaturwert ermittelt werden. Nach 24 Stunden war die Temperatur wieder auf knapp über das Ausgangsniveau abgesunken. Auch bei den mit NaCl behandelten Tieren der Kontrollgruppe konnte ein kontinuierlicher Anstieg des Temperaturmittelwerts bis 10 Stunden nach der Impfung gemessen werden, nach 24 Stunden war das Ausgangsniveau wieder erreicht. Im Vergleich zur Kontrollgruppe konnten nur bei der Gruppe C an mehreren Zeitpunkten signifikante Temperaturanstiege festgestellt werden.

Im **Hauptversuch** wurden die Messintervalle beibehalten, jedoch wurden zwei weitere Messzeitpunkte (T 7 und T 8) hinzugefügt, da die Werte beim letzten Messzeitpunkt des Vorversuches oftmals Maximalwerte darstellten und nur so der Scheitelpunkt der lokalen Wärmeproduktion erfasst werden konnte.

Die Verlaufskurve des Temperaturmittelwertes der Gruppen 1A und 2A im Hauptversuch stieg im Gegensatz zur Gruppe A im Vorversuch mit zeitlichen Unterbrechungen bis zum letzten Messzeitpunkt 14 Stunden nach Injektion kontinuierlich an. Der 24-Stunden Temperaturwert lag ein Grad Celsius über dem Ausgangswert. Bei den Tieren der Gruppe 2A konnte bei den weiteren täglichen Verlaufsmessungen an Tag 4 nach Versuchsbeginn ein deutlicher Abfall der lokalen Wärmeproduktion im Thermogramm um 1,5°C festgestellt werden, einen Tag später war die Temperatur wieder um 1,5°C angestiegen. Im weiteren Verlauf erniedrigte sie sich wieder auf das Ausgangsniveau 7 Tage zuvor. Während im Vorversuch bei Gruppe B die Temperatur kontinuierlich anstieg, sank bei den B-Gruppen im Hauptversuch der lokale gemessene Temperaturmittelwert zunächst ab und stieg dann wieder etwa auf das Ausgangsniveau an, auf dem die Temperatur mit geringen Schwankungen konstant blieb. Bei der Gruppe 2B verringerte sich die Temperatur kontinuierlich auf den Wert vor der Impfung. Im Gegensatz dazu sank die Temperatur im Mittelwert bei den Gruppen 1C und 2C nach der Impfung zunächst ab, steigerte sich sodann aber kontinuierlich auf 37,5°C, das entspricht 1,3 °C über dem Ausgangswert. Derart hohe Temperaturwerte von rund 42°C wie im Vorversuch wurden nicht annähernd erreicht. Der 24-Stunden-Wert lag ein Grad Celsius über dem Ausgangswert, im Vorversuch war zu diesem Zeitpunkt der Ausgangswert

wieder erreicht. Bei den Tieren aus der Kontrollgruppe D sank die Temperatur im Mittel zunächst ab, zwischen 4 und 6 Stunden post injectionem befand sie sich auf Ausgangsniveau. Im Folgenden stieg die Temperatur wieder kontinuierlich an, am zweiten Versuchstag war wieder die Ausgangstemperatur erreicht. Bei der Gruppe 2D verringerte sich die Temperatur im Mittel weiter auf 1°C unter dem Ausgangswert eine Woche zuvor.

Im **Vorversuch** sind mit der Wärmebildkamera lediglich bei der Gruppe C signifikant höhere Temperaturwerte ab 2 Stunden nach der Impfung im Vergleich zur Kontrollgruppe gemessen worden. Die Temperaturverlaufskurven (Abbildung 7) der beiden anderen Impfgruppen stellten sich ähnlich der Kurve der Kontrollgruppe dar. Bei Gruppe C konnten auch beim Parameter lokale Gewebepalpation (Tabelle 23) vermehrt lokale Umfangsvermehrungen beobachtet werden, ebenfalls ab 2 Stunden nach Versuchsbeginn. Dies war jedoch, wenn auch in etwas geringerem Umfang, auch bei Gruppe A der Fall.

Im **Hauptversuch** hingegen wurden innerhalb der ersten 24 Stunden bei 5 von 9 Messzeitpunkten signifikante Unterschiede zwischen der Gruppe A und der Kontrollgruppe D vorhanden. Lediglich bei zwei Zeitpunkten konnte im Gegensatz zum Vorversuch auch im Hauptversuch ein signifikanter Unterschied zur Gruppe C berechnet werden. Auffällig ist, dass die Signifikanzen zwischen A und D zwischen 2 und 6 Stunden, sowie nach 10 und 14 Stunden post injectionem auftreten, die Signifikanzen zwischen C und D erst zu einem späteren Zeitpunkt, nämlich 8 und 10 Stunden post injectionem. Zum Vergleich, im Vorversuch unterschieden sich die Werte von C und D ab 2 Stunden nach Applikation über den gesamten Zeitraum des Versuches (12 Stunden) signifikant. Bei der Beurteilung des Parameters lokale Gewebepalpation wurden bei Gruppe A, obwohl diese die höchsten Temperaturwerte und die meisten signifikanten Unterschiede zur Kontrollgruppe ausweist, bei maximal nur 3 von 16 Tieren geringgradige lokale Veränderungen palpiert. Dies geschah zwischen 6 und 10 Stunden nach der Impfung. Bei der Gruppe C wiesen bis zu 13 der 16 Tiere zwischen 4 und 24 Stunden nach Injektion gering- und mittelgradige lokale Veränderungen an der Injektionsstelle auf.

Man kann somit festhalten, dass sich im Vor- und Hauptversuch trotz standardisierter Tierausswahl, Impfung und Versuchsdurchführung für jede Impfgruppe charakteristische Temperaturverlaufskurven ergeben, die weder in ihrem Verlauf

noch in der Ausbildung ihres Maximalwertes reproduzierbar sind. Bei höheren Umgebungstemperaturen wie im Vorversuch liegen die maximalen Temperaturwerte auf einem höheren Niveau. Signifikante Unterschiede zur Kontrollgruppe bestanden im Vorversuch nur zur Gruppe C, hier über fast den gesamten Messzeitraum von 14 Stunden. In diesem Zeitraum konnten auch palpatorisch lokale Umfangsvermehrungen bemerkt werden. Im Hauptversuch hingegen bestanden zwischen Gruppe D und C nur an zwei Messzeitpunkten signifikante Unterschiede, an der Injektionsstelle konnten jedoch schon vor Erreichen eines signifikanten Unterschiedes bei einigen Tieren sogar mittelgradige Schwellungen palpiert werden. Ebenfalls im Gegensatz zu den Ergebnissen des Vorversuches bestanden zwischen den Gruppen A und D bei mehr als der Hälfte der lokalen Temperaturmessungen signifikante Unterschiede. Das Auftreten lokaler Umfangsmehrungen an der Injektionsstelle lässt sich bei der Gruppe A zwar in Einklang bringen mit den Zeitpunkten der signifikanten Temperaturunterschiede, allerdings traten diese im Hauptversuch bei nur 3 von 16 Tieren auf, im Vorversuch waren es 14 von 23, jedoch ohne signifikante Unterschiede im Thermogramm.

Gründe für diese vielen verschiedenen, nicht reproduzierbaren Ergebnisse liegen einerseits sicherlich wie von SAVARY et al. (2008), GABRIEL (2008) und TRAULSEN et al. (2010) beschrieben an der Wärmebildkamera selbst. Andererseits übt das Versuchstier Schwein als Lebewesen und Individuum sicher auch einen großen Einfluss auf die Ergebnisse aus. Bei größeren Unterschieden der Temperaturwerte und höheren absoluten Temperaturwerten (wie z.B. bei Gruppe C und D) scheint die Wärmebildkamera am ehesten signifikante Unterschiede erfassen zu können.

Beim statistischen Vergleich der Gruppen untereinander konnten im Vorversuch bei sehr vielen Messzeitpunkten signifikante Unterschiede nachgewiesen werden, im Hauptversuch war dies jedoch bei weit weniger Zeitpunkten der Fall. Der Vergleich einer Impfgruppe mit der gesamten Kontrollgruppe bzw. der zugehörigen Kontrolluntergruppe lieferte unterschiedliche Ergebnisse. Es gab sowohl Übereinstimmungen als auch Abweichungen bzgl. signifikanter Werte an einem bestimmten Messzeitpunkt. Dies kann dadurch bedingt sein, dass die gesamte Kontrollgruppe einerseits eine größere Anzahl an Versuchstieren beinhaltet,

andererseits sind die Tiere in dieser Gruppe unterschiedlichen Alters und unterschiedlicher Größe. Eine ausschließliche Betrachtung der zugehörigen Impfgruppe macht jedoch wenig Sinn, da hier je nach Auswertungszeitraum nur maximal 2 bzw. 4 Tiere eine Gruppe bilden, wohingegen die Impfgruppe aus 8 bzw. 16 Tieren besteht. Somit haben individuelle Schwankungen einen großen Einfluss auf den Mittelwert.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass im vorliegenden Versuch die statistische Auswertung nur bezüglich des Vergleiches Impfgruppe – Kontrollgruppe aussagekräftig sein kann. Ein Vergleich der Impfgruppen untereinander bzw. einzelner Messpunkte mit dem Nullwert bzw. mit dem Vorigen liefert wenige Ergebnisse, da sich, aufgrund der starken Varianz der Messwerte innerhalb der kleinen Impfgruppen (8 Tiere), diese größtenteils nicht signifikant von der Kontrollgruppe unterscheiden. Auch innerhalb der Kontrollgruppe selbst bestehen signifikante Unterschiede bei den einzelnen Messzeitpunkten. Ein Vergleich der Gruppen untereinander liefert zwar viele signifikante Ergebnisse, jedoch waren bei allen Impfstoffen histopathologisch hochgradige Entzündungsreaktionen festzustellen, was die signifikanten Unterschiede der Wärmebildkamera in Frage stellt. Einerseits stellt die Wärmebildkamera selbst aufgrund ihrer Empfänglichkeit gegenüber Störfaktoren ein Problem hinsichtlich wiederholbarer Ergebnisse dar, andererseits muss man auch beachten, dass in diesem Versuch die Gruppengröße aufgrund der Euthanasie der Tiere so klein wie möglich gehalten wurde. Bei größeren Tierzahlen je Gruppe haben einzelne, individuell vom Mittel abweichende Tiere bzw. deren Werte keinen so großen Einfluss auf die gesamte Auswertung. SCHWARTZ et al. (2007) beispielsweise bildeten in ihren Studien Gruppen mit 16 Tieren, PETERSEN et al. (2008) Gruppen mit 20 Tieren. Im Hauptversuch betrug die Gruppengröße 8 Tiere pro Impfgruppe und 6 Tiere pro Kontrollgruppe.

In beiden Versuchen konnten für jede Gruppe unterschiedliche Temperaturverlaufskurven ermittelt werden. Es war jedoch nicht möglich, trotz standardisierter Vorgehensweise, die Ergebnisse des Vorversuches im Hauptversuch zu reproduzieren, was durch die Statistik untermauert werden kann. Ein möglicher Grund hierfür ist, dass die Ergebnisse der Wärmebildkamera, wie unter anderem von SAVARY et al. beschrieben, trotz vorheriger Justierung von der Umgebungs-

temperatur abhängig sind. Der Vorversuch in Thalhausen fand im Juli bei Umgebungstemperaturen von 26-30°C statt, der Hauptversuch an der Klinik für Schweine fand im November bei Umgebungstemperaturen von 18-20°C statt. Die Kamera war außerdem nur in den ersten Stunden, maximal bis 24 Stunden post injectionem in der Lage, akut ablaufende lokale Prozesse zu dokumentieren, im protrahierten und chronischen Stadium, in dem keine übermäßige Wärmebildung mehr stattfindet, kann die Wärmebildkamera keine Entzündungsreaktionen lokalisieren. Da es sich bei der in beiden Versuchen eingesetzten Wärmebildkamera um ein „Einsteigermodell“ mit geringer Auflösung handelte, könnten möglicherweise mit hochsensiblen Geräten, die speziell für die Anwendung in der Medizin entwickelt wurden, exaktere Daten, v.a. im Übergangszeitraum von einer akuten in eine chronische Entzündung, erhoben werden. Als interne Störfaktoren sind die technischen Spezifikationen der Wärmebildkamera in Betracht zu ziehen, zu den externen Störfaktoren zählen unter anderem die Umgebungstemperatur, die Luftgeschwindigkeit und –feuchtigkeit und die Lichtverhältnisse in dem Raum, in dem die Aufnahmen gemacht werden. Außerdem muss man dabei beachten, dass es sich bei den Versuchstieren um lebende Tiere handelte, also um „bewegte Objekte“.

## **5.2 Parameter Körperinnentemperatur**

Die Messung der Körperinnentemperatur erfolgte parallel zur Thermographie. Im **Vorversuch** schwankte die Körperinnentemperatur der Gruppe A über den gesamten Messzeitraum um 0,5 °C um den Ausgangswert. Der Temperaturmittelwert der Gruppe B blieb zunächst gleich, stieg dann kontinuierlich bis 10 Stunden post injectionem an, nach 24 Stunden war die Körperinnentemperatur im Mittel wieder abgesunken und lag knapp über dem Ausgangsniveau. Bei Gruppe C konnte wie bei der lokal gemessenen Wärmeproduktion auch ein erheblicher Abstieg der rektal gemessenen Körperinnentemperatur beobachtet werden. Ebenfalls nach 6 Stunden bis 10 Stunden p. inj. stieg die Temperatur auf über 41 °C. Nach 24 Stunden lag die Temperatur im Mittel immer noch bei 41°C. Die Tiere der Kontrollgruppe D reagierten nicht mit einer systemischen Erhöhung der Körperinnentemperatur auf die Injektion von NaCl.

Im **Hauptversuch** führte die Applikation des Impfstoffes bzw. der isotonischen Kochsalzlösung bei den Gruppen 1A, 2A, 1B, 2B, 1D und 2D innerhalb der ersten 24 Stunden zu keinen bedeutsamen Änderungen bei der Körperinnentemperatur. Lediglich die Gruppe C reagierte auf die Impfung mit einem erheblichen Anstieg der Körperinnentemperatur. Zwischen vier und zwölf Stunden nach der Applikation betrug die Temperatur im Mittel mindestens 40°C, nach 24 Stunden waren Werte unter 40 Grad erreicht.

Während der folgenden sechs Tage konnten bei den Gruppen 2A-D keine nennenswerten Änderungen mehr festgestellt werden.

Signifikante Unterschiede zur Kontrollgruppe wurden nur für die Gruppe C von T 2 bis T 7 festgestellt.

Auch im Hauptversuch wurden beim statistischen Vergleich der Gruppen untereinander deutlich weniger signifikante Unterschiede berechnet als im Vorversuch. Beim Vergleich der Impfgruppe mit der Kontrollgruppe konnten bei den Gruppen A und C Ergebnisse ähnlich dem Vorversuch erzielt werden. Beim Vergleich der Messzeitpunkte einer Gruppe lässt sich zwischen Vor- und Hauptversuch ein annähernd vergleichbares Muster bezüglich signifikanter Unterschiede erkennen. Im Hauptversuch konnten beim Parameter Körperinnentemperatur bei Gruppe C die Ergebnisse des Vorversuches reproduziert werden. Im Vergleich zur Kontrollgruppe D wiesen die Tiere der Gruppe C im Mittelwert den höchsten Wert für die Körperinnentemperatur auf.

Im Gegensatz zu den Ergebnissen, die mit der Thermographie erhoben wurden, konnten die Temperaturverläufe bei der Körperinnentemperatur aus dem Vorversuch auch im Hauptversuch größtenteils in ihren wesentlichen Merkmalen (Temperaturverlaufskurve, -maxima) reproduziert werden. Die Berechnung einer Korrelation zwischen den Ergebnissen der Wärmebildkamera und denen der Messung der Körperinnentemperatur lieferte keine statistisch signifikanten Ergebnisse, die beiden Parameter sind somit nicht korreliert. Die Ergebnisse der Körperinnentemperaturmessung dagegen zeigen, dass jeder Organismus, wie aus der Immunologie seit langem bekannt, auf eine Impfung mit einer Erhöhung der Körperinnentemperatur reagiert. Diese Erhöhung wird hervorgerufen durch eine durchaus gewollte, physiologische Adjuvans-induzierte Entzündungsreaktion. Diese

Körpertemperaturänderungen können mit einem einfachen Fieberthermometer zuverlässig und reproduzierbar erfasst werden. Die Thermographie hingegen scheint von externen Störfaktoren und den technischen Spezifikationen der Kamera wesentlich stärker abhängig zu sein als die Messung der Körperinnentemperatur.

### 5.3 Score Allgemeinbefinden

Sowohl im Vorversuch als auch im Hauptversuch reagierte keines der 60 Versuchstiere mit einer Störung des Allgemeinbefindens. Trotzdem ist dieser Parameter von großer Bedeutung, da nur so das Wohlbefinden der Tiere während der Versuchsdurchführung dokumentiert werden kann und somit eine Veränderung der erhobenen Versuchsdaten durch Erkrankungen oder etwaige Nebenwirkungen ausgeschlossen werden kann. Zudem können so auch Rückschlüsse auf die Verträglichkeit der angewandten Präparate gezogen werden.

Für den Impfstoff Ingelvac M.hyo<sup>®</sup> (Gruppen B im Vor- und Hauptversuch) führt BOEHRINGER INGELHEIM (2007) Nebenwirkungen wie Apathie und Appetitlosigkeit, die nach wenigen Tagen abklingt, auf. Eine verringerte Futteraufnahme nach Impfung tragender Sauen beschreibt BOEHRINGER INGELHEIM (2008b) als Nebenwirkung des Impfstoffes Ingelvac Flu<sup>®</sup> (Gruppen C im Vor- und Hauptversuch). In den vorliegenden Versuchen konnten bei keinem der angewandeten Injektate derartige Auffälligkeiten beobachtet werden.

### 5.4 Score lokale Gewebepalpation

Im **Vorversuch** traten bei der lokalen Gewebepalpation bei rund der Hälfte der Tiere aus Gruppe A geringgradige und mittelgradige Veränderungen auf. Bei Gruppe B war dies nur bei drei Tieren und nur über einen kurzen Zeitraum der Fall. Innerhalb der Gruppe C waren bei bis zu 12 Tieren gering-, aber auch bei bis zu 7 Tieren mittelgradige Veränderungen festzustellen. Auch in der Kontrollgruppe D waren Veränderungen nach der Injektion von Kochsalzlösung festzustellen.

Im **Hauptversuch** konnten nur bei wenigen Tieren der Gruppe 1A und 2A geringgradige Veränderungen festgestellt werden. In der Gebrauchsinformation des Impfstoffes Ingelvac CircoFLEX<sup>®</sup> sind keine derartigen Nebenwirkungen aufgeführt. Bei annähernd der Hälfte der Tiere aus Gruppe 1B und 2B waren geringgradige lokale Veränderungen festzustellen. Boehringer Ingelheim beschreibt in der



Gebrauchsinformation des Impfstoffes Ingelvac M.hyo<sup>®</sup>, dass in 2,4% der Fälle Schwellungen von 2cm Größe im Durchmesser beobachten werden können, die nach ein bis zwei Tagen verschwinden. Letzteres konnte bestätigt werden, die lokalen Veränderungen waren bereits nach 24 Stunden wieder zurückgebildet. Bei der Gruppe 1C und 2C wurden lokale Veränderungen in gering- und mittelgradiger Ausprägung beobachtet. Teilweise konnte bei diesen Tieren auch zusätzlich eine Rötung der Haut im Bereich der Injektionsstelle beobachtet werden. Gemäß der Produktinformation von Ingelvac Flu<sup>®</sup> können Hautverhärtungen, geringgradige Schwellungen und Rötungen an der Injektionsstelle auftreten, jedoch nach versehentlicher subcutaner Injektion. Im Versuch wurden die Impfstoffe entsprechend den Standards der guten veterinärmedizinischen Praxis intramuskulär appliziert. Bei der Kontrollgruppe 1D und 2D wurden nur bei wenigen Tieren geringgradige lokale Veränderungen palpatorisch festgestellt.

Ein direkter Vergleich der Score-Ergebnisse aus dem Vor- und Hauptversuch ist nicht möglich, da dieser Score nach den Erfahrungen aus dem Vorversuch modifiziert wurde. Im Vorversuch wurden die Parameter Wärme, Rötung, Schwellung beurteilt, wobei beim Vorhandensein eines Parameters bereits die Einstufung in den jeweiligen Score erfolgte. Im Hauptversuch diente der Score der Dokumentation von Schwellungen/ Umfangsvermehrungen an der Injektionsstelle, wobei jedem Score-Wert eine exakte Größenabstufung der Schwellung vorgegeben war. Die Bewertung und Dokumentation der Rötung der Injektionsstelle erfolgten separat.

Abschließend kann man sagen, dass im Hauptversuch die meisten palpatorisch erfassbaren Veränderungen bei Gruppe C und bei Gruppe B bestanden. Bei B handelte es sich immer um geringgradige Veränderungen bis maximal 5 Millimeter Durchmesser, wohingegen bei Gruppe C auch Veränderungen bis 15mm erfasst wurden. Bei Gruppe B bilden sich die Umfangsvermehrungen schneller zurück als bei Gruppe C. Bemerkenswert ist auch, dass bei Gruppe A kaum Veränderungen palpiert werden konnten, jedoch histologisch beachtliche Entzündungsreaktionen festgestellt wurden. Darüber hinaus wurde der Impfstoff (Noxe) bei den Tieren der Gruppe C aufgrund deren Größe tiefer intramuskulär appliziert als bei Gruppe A oder B.

## 5.5 Pathologie

Bei der Entnahme der Gewebeproben sowie bei der weiteren Bearbeitung der Proben zur histologischen Untersuchung wurde bei 16 Proben eine weißlich-ölige Substanz festgestellt. Da dies ausschließlich und zugleich bei allen Proben der Tiere festgestellt wurde, die mit dem Impfstoff Ingelvac M.hyo<sup>®</sup> geimpft wurden, liegt die Vermutung nahe, dass es sich bei der Substanz um einen Rückstand des Impfstoffes handelt. Die Lokalisation kann mit der Länge der Impfkanüle bzw. der Tiefe der Applikation in Verbindung gebracht werden.

Weiter konnte gezeigt werden, dass ein Zusammenhang zwischen der Hauptlokalisierung der Entzündungsreaktion und der Kanülenlänge bei der Applikation besteht.

Durch die histologische Beurteilung der entnommenen Gewebeproben konnte für jeden Impfstoff eine charakteristische Entzündungsreaktion beobachtet werden.

Die Tiere der Kontrollgruppe wiesen nach der Applikation von isotonischer Kochsalzlösung keine histopathologischen Veränderungen in der Gewebeprobe bzw. in der Muskulatur auf. Deshalb ist anzunehmen, dass die mit der Wärmebildkamera dokumentierten, leichten lokalen Temperaturerhöhungen sowie die palpatorischen Befunde an der Injektionsstelle durch die Traumatisierung des Gewebes durch den Vorgang der Applikation selbst hervorgerufen wurden. Dieser Aspekt ist entsprechend auch bei den Tieren der Impfgruppen mit zu berücksichtigen.

Die Injektion des Impfstoffes Ingelvac CircoFLEX<sup>®</sup> (Adjuvans Carbomer) führte sowohl bei den Tieren der Gruppe 1A als auch bei den Tieren der Gruppe 2A durchweg zu einer mittel- bis hochgradigen Entzündungsreaktion. Die Wärmebildkamera lieferte jedoch nur innerhalb der ersten 24 Stunden Ergebnisse bezüglich erhöhter lokaler Wärmeproduktion. Bei den Tieren, die erst sieben Tage nach Injektion zur Gewebeprobenentnahme euthanasiert wurden, konnten mit der Wärmebildkamera keine Ergebnisse gewonnen werden, die auf eine noch ablaufende Entzündungsreaktion schließen lässt. Die Ergebnisse von SCHWARTZ et al. (2007) und PETERSEN et al. (2008), die beide in ihren Untersuchungen keinen signifikanten Unterschied zwischen CircoFLEX<sup>®</sup>-Impftieren und der Kontrollgruppe feststellen konnten, wurden somit nicht bestätigt.

Der auf dem Adjuvans Montanide ISA 708<sup>®</sup> basierende Impfstoff Ingelvac M.hyo<sup>®</sup> induzierte eine mittel- bis hochgradige Entzündung, teilweise sogar mit Untergang des Gewebes. Dies betrifft sowohl die Gewebeproben von den Tieren, die 24 Stunden nach Applikation, als auch die Gewebeproben von den Tieren, die sieben Tage nach Applikation entnommen wurden. Mit der Thermographiekamera konnten jedoch weder bei den Tieren der Gruppe 1A noch bei denen der Gruppe 2A lokal signifikante Unterschiede zur Kontrollgruppe festgestellt werden.

Signifikante Unterschiede zur Kontrollgruppe im Temperaturverlauf der Thermogramme konnten nur nach Injektion von Ingelvac Flu<sup>®</sup> beobachtet werden. Dies war allerdings auch nur innerhalb der ersten 24 Stunden post injectionem möglich. Der Impfstoff mit den beiden Adjuvantien Montanide ISA 25 VG<sup>®</sup> sowie Aluminiumhydroxid rief bei den Tieren aus Gruppe 1C durchweg hochgradige Entzündungen, zur Hälfte sogar mit Gewebeuntergang, hervor. Dieser massive Entzündungsvorgang konnte sowohl mittels Thermographie als auch durch Messung der Körperinnentemperatur dokumentiert werden. Die mittel- bis hochgradigen Entzündungen, die noch sieben Tage nach Injektion in der histopathologischen Untersuchung festgestellt wurden, konnten jedoch zu diesem Zeitpunkt nicht durch Aufnahmen mit der Wärmebildkamera beobachtet werden.

## **5.6 Aussagekraft der beurteilten Parameter**

Die Wärmebildkamera ist in der Lage, lokale Änderungen der Wärmeproduktion und -abgabe zu dokumentieren. Allerdings unterliegt diese Messung einem großen Einfluss diverser externer Störfaktoren. Dies konnte durch die Durchführung der beiden vorliegenden Versuche, die an verschiedenen Orten und bei verschiedenen Umgebungseinflüssen (u.a. Temperatur, Luftgeschwindigkeit und –feuchtigkeit) stattfand, bestätigt werden. Hierdurch wird eine Reproduzierbarkeit der Ergebnisse stark erschwert. Ein Zusammenhang zwischen der lokalen Thermographie und der Körperinnentemperatur konnte somit nicht untersucht bzw. bestätigt werden. Ebenso besteht kein Zusammenhang mit den Befunden der lokalen Gewebepalpation an der Injektionsstelle und der gemessenen Wärmeentwicklung. Bei der Gruppe C wurde lokal ein signifikanter Anstieg der Oberflächentemperatur im Bereich der Applikation festgestellt und zugleich waren histologisch hochgradig entzündliche Veränderungen zu sehen. Ähnliche histologische Befunde ergaben sich bei den anderen

Impfgruppen, jedoch ohne eine derart ausgeprägte lokale Temperaturerhöhung. Bei der Kontrollgruppe erhöhte sich die Temperatur ebenfalls, jedoch ohne dass histologische Veränderungen festgestellt werden konnten.

Die Wärmebildkamera lieferte somit sowohl bei vorhandener als auch bei nicht vorhandener Entzündung Ergebnisse bezüglich einer lokalen Temperaturerhöhung. Es kann aber auch der Fall sein, dass eine hochgradige Entzündung im Gange ist, ohne dass im Thermogramm Auffälligkeiten zu bemerken sind. Die Wärmebildkamera könnte somit vorwiegend als ergänzendes Mittel zur Histopathologie Anwendung finden.

Die Messung der Körperinnentemperatur war ebenfalls nur teilweise in der Lage, einen Zusammenhang zwischen Temperatur und Entzündung aufzuzeigen (Gruppe C). Die Messung der Körperinnentemperatur ist in der Medizin jedoch etabliert, auf dem Markt befindliche Fieberthermometer liefern zuverlässige Temperaturwerte. Jedoch muss beachtet werden, dass die Körperinnentemperatur bei Schweinen stressbedingt durch den Vorgang der Messung und die damit verbundene Fixation in Kürze deutlich ansteigen kann, womit die eigentliche Temperatur vor der Messung verfälscht wird. Dies erfordert eine möglichst ruhige und standardisierte Vorgehensweise.

Der Score Allgemeinbefinden zeigte auf, dass trotz teils massiver Gewebeschädigung und deutlich erhöhter Körperinnentemperatur bei den Schweinen keine Störungen des Allgemeinbefindens aufgetreten sind. Dieser Score sollte stets neben allen anderen Untersuchungsmethoden zur Dokumentation des Wohlbefindens der Versuchstiere ermittelt werden.

Der Score lokale Gewebepalaption lieferte wenige Ergebnisse. Die vom Impfstoffhersteller angegebenen möglichen lokalen Reaktionen konnten in einem sehr begrenzten Umfang, meist nur andeutungsweise, festgestellt werden. Ein Zusammenhang zwischen Score und Histologie könnte nur dann hergestellt werden, wenn der Score ein positives Ergebnis im Sinne einer Schwellung liefert. Des Weiteren können kleinere Schwellungen alleinig durch die Kanüle und den Vorgang der Impfung selbst (Traumatisierung des Gewebes) hervorgerufen werden. Mit steigender Größe, zunehmendem Gewicht und damit einer tieferen Applikation der

Noxe scheint die Möglichkeit der Palpation einer Schwellung an der Hautoberfläche geringer zu werden.

Den Ergebnissen dieses Versuches zufolge ist die (Histo-) Pathologie der Goldstandard zur Beurteilung lokaler Gewebe(un)verträglichkeiten. Nur so können sowohl makroskopisch als auch mikroskopisch Veränderungen jeglicher Art dokumentiert und hinsichtlich ihrer Prognose bewertet werden.

Ein ergänzender Einsatz neuer Techniken wie der Thermographie kann jedoch trotzdem sinnvoll sein, wenn man die Vorgehensweise weiter standardisiert (z.B. unter Laborbedingungen) und die Kameras an diese spezielle Fragestellung technisch anpasst. Damit könnte nicht nur das Vorhandensein einer Entzündung, sondern deren flächenmäßige Ausdehnung im Gewebe berechnet und dokumentiert werden, wie von GLAS (2008) beschrieben.



## 6 Schlussfolgerung

Da im Rahmen von Impfstoff- und Chargenprüfungen viele Versuchstiere am Ende des Versuches zur histologischen Untersuchung der Injektionsstelle euthanasiert werden müssen, wurde mit der folgenden Arbeit untersucht, ob sich mit der Methode der nicht-invasiven Thermographie Möglichkeiten aufzeigen, den derzeitigen Goldstandard der Histopathologie zur Beurteilung der lokalen Verträglichkeit von Impfstoffen mittels Thermographie zumindest teilweise zu ersetzen.

Die Applikation von drei Impfstoffen mit unterschiedlichen Adjuvantien lieferte verschiedene Ergebnisse. Jeder Impfstoff bzw. jedes Adjuvans rief im Gewebe um die Injektionsstelle charakteristische Entzündungsreaktionen hervor, die histopathologisch unterschieden werden können. Die Wärmebildkamera ist in der Lage, die Oberflächentemperatur zu messen, allerdings lassen sich diese Ergebnisse nicht in Einklang mit denen der Histopathologie bringen. Die Gewebepalpation an der Applikationsstelle lieferte keine reproduzierbaren Ergebnisse. Bezüglich des Kriteriums „Allgemeinbefinden“ sind die eingesetzten Impfstoffe/ Adjuvantien als gut verträglich einzustufen.

Die Ergebnisse, die mit der Wärmebildkamera erzielt wurden, unterschieden sich trotz standardisierter Vorgehensweise zwischen Vor- und Hauptversuch, welche bei unterschiedlichen Umgebungstemperaturen durchgeführt wurden. Sie waren somit nicht reproduzierbar.

Ein Zusammenhang zwischen der lokalen Wärmeproduktion, erfasst im Thermogramm, und der Körperinnentemperatur konnte mittels Korrelationsberechnungen nicht nachgewiesen werden.

Ein Zusammenhang zwischen der lokalen Temperatur nach der Impfung und den histopathologischen Befunden konnte nicht gezeigt werden. Die Wärmebildkamera war nur maximal innerhalb der ersten 24 Stunden in der Lage, vom Ausgangswert abweichende lokale Temperaturwerte nachzuweisen. Im Hauptversuch zeigte sich, dass die lokal gemessenen Temperaturmittelwerte der Tiere, die mit dem Impfstoff Ingelvac Flu® geimpft wurden, unter denen der Tiere lagen, die mit Ingelvac CircoFLEX® geimpft wurden. Bezüglich des Schweregrades der Entzündung zeigte sich histopathologisch jedoch ein umgekehrtes Bild.

Bei der zweiten Hauptgruppe konnten sieben Tage nach Injektion immer noch teils hochgradige Entzündungsreaktionen nachgewiesen werden, im Thermogramm

konnten zu diesen Zeitpunkten keine Unterschiede zur Kontrollgruppe mehr festgestellt werden.

Zwischen den Ergebnissen der Körperinnentemperatur und den Ergebnissen der histopathologischen Gewebeuntersuchung konnte ebenfalls kein grundsätzlicher Zusammenhang nachgewiesen werden. Bei allen drei Impfgruppen konnten histopathologisch sowohl 24 Stunden als auch 7 Tage nach Applikation teils hochgradige Entzündungsreaktionen nachgewiesen werden. Ein deutlicher Anstieg der Körperinnentemperatur auf über 41°C konnte jedoch nur bei der Gruppe C innerhalb des ersten Tages festgestellt werden.

Bezüglich der Beurteilung der Injektionsstelle mittels Palpations-Score lässt sich festhalten, dass es Unterschiede zwischen den einzelnen Impfstoffen hinsichtlich der Ausprägung von Umfangsvermehrungen gibt, jedoch waren die Ergebnisse aus dem Vorversuch nicht reproduzierbar.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass die Wärmebildkamera in der Lage ist, lokale Entzündungsreaktionen zu erfassen, allerdings nur im Zeitraum von wenigen Stunden nach Applikation des jeweiligen Injektates.

Da die Ergebnisse der Thermographie im Gegensatz zu den Ergebnissen der Messung der Körperinnentemperatur nicht reproduzierbar waren, liegt die Vermutung nahe, dass die lokale Temperaturmessung mittels Wärmebildkamera vielen Störfaktoren aus der Umgebung unterliegt. Auch die Größe bzw. das Gewicht der Tiere und die Applikationstiefe der Noxe dürfen nicht außer Acht gelassen werden.

Die Histopathologie lieferte unabhängig vom Adjuvans zwei wichtige Ergebnisse. Die Hauptlokalisation des Entzündungsgeschehens ist bei den Tieren, die 7 Tage nach Applikation euthanasiert wurden, in tiefer gelegeneren Gewebeschichten anzutreffen als bei den Tieren, die 24 Stunden post applicationem euthansiert wurden. Außerdem unterscheiden sich die verwendeten Impfstoffe/ Adjuvantien hinsichtlich dem Grad und der Art der ausgelösten Entzündungsreaktion.

Die Thermographie ist somit nicht in der Lage, die histopathologische Untersuchung zu ersetzen. Nichtsdestotrotz erscheint ein ergänzender Einsatz sinnvoll. Dasselbe Fazit lässt sich für den Parameter Körperinnentemperatur und die lokale Gewebepalpation an der Injektionsstelle ziehen.



## 7 Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war es, eine vergleichende Untersuchung von Injektionsstellen mittels nicht-invasiver Thermographie und Histopathologie durchzuführen. Anhand der Ergebnisse beider Verfahren sollte beurteilt werden, ob mit der Thermographie gleichwertige bzw. vergleichbare Aussagen gemacht werden können wie mit der histopathologischen Beurteilung der Injektionsstelle.

Hierzu wurden in einem Vorversuch 73 Schweine mit drei verschiedenen Impfstoffen/Adjuvantien geimpft, 74 Tiere befanden sich in der Kontrollgruppe. In einem 2-stündigen Intervall wurden mit der Thermographiekamera über einen Zeitraum von 10 Stunden die lokalen Temperaturwerte an der Injektionsstelle ermittelt, parallel dazu erfolgte die Messung der Körperinnentemperatur, eine palpatorische Beurteilung des Gewebes an der Injektionsstelle und eine Beurteilung des Allgemeinbefindens anhand eines Scoresystems. Nach 24 Stunden wurden oben genannte Parameter nochmals erhoben.

Nach oben genanntem Schema wurde anschließend ein Hauptversuch durchgeführt, in den 60 Tiere, aufgeteilt in 2 Hauptgruppen mit je 3 Impfgruppen und einer Kontrollgruppe, aufgenommen wurden. Die beiden Gruppen waren identisch aufgebaut. Nach der Applikation erfolgte wie im Vorversuch im 2-stündigen Intervall die Beurteilung der Parameter Wärmebildkamera, Körperinnentemperatur, lokale Gewebepalpation und Allgemeinbefinden. Dies erfolgte bei beiden Gruppen am ersten Tag über einen Zeitraum von 14 Stunden, am zweiten Tag 24 Stunden nach der Applikation. Die Tiere aus Hauptgruppe 1 wurden nach 24 Stunden zwecks histopathologischer Untersuchung euthanasiert. Bei den Tieren aus Hauptgruppe 2 wurden die oben erwähnten Parameter einmal täglich bis zum siebten Tag nach Applikation fortgeführt, anschließend erfolgte auch bei diesen Tieren eine histopathologische Untersuchung des Gewebes an der Injektionsstelle.

Die Ergebnisse der Thermographie aus dem Vorversuch konnten im Hauptversuch nicht reproduziert werden, die Befunde der lokalen Gewebepalpation nur teilweise. Die Ergebnisse der Temperaturmittelwerte der Körperinnentemperatur konnten bezüglich des unterschiedlichen Verlaufs zwischen den Gruppen bestätigt werden.

Es konnte gezeigt werden, dass jeder Impfstoff/ jedes Adjuvans eine charakteristische Entzündungsreaktion in unterschiedlicher Intensität hervorruft. Ein Zusammenhang zwischen dem Schwere- und Ausbreitungsgrad der Entzündung und dem mittels Thermographie erfassten lokalen Temperaturwert konnte nicht eindeutig gezeigt werden. Eine Korrelation zwischen den Ergebnissen der Wärmebildkamera und denen der Körperinnentemperatur konnte ebenfalls nicht bewiesen werden.

## 8 Summary

The aim of this study was to perform a comparative analysis of injection sites using non-invasive thermography and histopathology. Based on the results of both methods it should be evaluated whether thermography can make equivalent or similar statements as the histopathological evaluation of injection sites.

For this purpose 73 pigs were vaccinated in a preliminary experiment with three different vaccines/ adjuvants, 74 animals represented the control group. In a two-hour interval the local temperature values were determined with the thermography camera over a period of ten hours at the injection site. Parallel to this a measurement of body temperature, a palpatory evaluation of the tissue at the injection site and an evaluation of general health using a scoring system took place. After 24 hours the parameters mentioned above were measured again.

Following the scheme, which was described above, a main study was conducted with 60 animals, divided into two main groups, each including three vaccine groups and one control group. The two groups were of identical design. According to the preliminary test, the four parameters of thermal imaging, measurement of the body temperature, local measurement of the tissue on the injection site and the evaluation of general health by scoring systems were measured in a two-hour interval. On the first day this was done in both groups over a period of 14 hours, on the second day once 24 hours after application. The animals from group 1 were euthanized after 24 hours for the purpose of histopathological examination. In the animals from main group 2, the above-mentioned parameters were measured once a day until the seventh day after application, then the tissue at the injection site of these animals was taken for a histopathological examination.

The results of thermography in the preliminary experiment could not be reproduced in the main study, the results of the local tissue scoring only partially. The results of the mean temperature values of the internal body temperature were evaluable between the two studies for their different paths between the four groups.

It could be shown that each vaccine/ each adjuvant induces a characteristic inflammatory response in different intensity. A correlation between the severity and extent of spread of inflammation and the local temperature value using the technology of thermal imaging could not clearly be shown. A correlation between the results of the thermal imaging camera and the results of measuring the body temperature could also not be shown.

## 9 Abbildungsverzeichnis

<b>Abbildung 1:</b> Auswertung eines Thermogrammes mit der Software PCE-TC Imager Serie®, Übersichtsansicht des Programmes	30
<b>Abbildung 2:</b> Auswertung eines Thermogrammes mit der Software PCE-TC Imager Serie®, Auswertungsfeld und wärmster Punkt an der Injektionsstelle markiert	30
<b>Abbildung 3:</b> Versuchstier vor der Entnahme der Gewebeprobe in der Pathologie	41
<b>Abbildung 4:</b> Versuchstier während der Entnahme der Gewebeprobe in der Pathologie	42
<b>Abbildung 5:</b> vollständig entnommene Gewebeprobe	42
<b>Abbildung 6:</b> Schneidevorrichtung zur Bearbeitung der Gewebeblöcke	43
<b>Abbildung 7:</b> Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 6 der Gruppen A bis D, Parameter Wärmebild des Vorversuches	51
<b>Abbildung 8:</b> Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle sowie der dazugehörigen Standardabweichung bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 6 der Gruppen A und D, Parameter Wärmebild des Vorversuches	51
<b>Abbildung 9:</b> Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle sowie der dazugehörigen Standardabweichung bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 6 der Gruppen B und D, Parameter Wärmebild des Vorversuches	52
<b>Abbildung 10:</b> Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle sowie der dazugehörigen Standardabweichung bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 6 der Gruppen C und D, Parameter Wärmebild des Vorversuches	52
<b>Abbildung 11:</b> Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 6 der Gruppen A bis D, Parameter Körpertemperatur des Vorversuches	56
<b>Abbildung 12:</b> Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle sowie der dazugehörigen Standardabweichung bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 6 der Gruppen A und D, Parameter Körpertemperatur des Vorversuches	56
<b>Abbildung 13:</b> Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle sowie der dazugehörigen Standardabweichung bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 6 der Gruppen B und D, Parameter Körpertemperatur des Vorversuches	57
<b>Abbildung 14:</b> Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle sowie der dazugehörigen Standardabweichung bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 6 der Gruppen C und D, Parameter Körpertemperatur des Vorversuches	57
<b>Abbildung 15:</b> Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 8 der Gruppen 1A bis 1D und 2A bis 2D, Parameter Wärmebild des Hauptversuches	66
<b>Abbildung 16:</b> Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle sowie der dazugehörigen Standardabweichung bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 8 der Gruppen 1A und 2A sowie 1D und 2D, Parameter Wärmebild des Hauptversuches	66
<b>Abbildung 17:</b> Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle sowie der dazugehörigen Standardabweichung bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 8 der Gruppen 1B und 2B sowie 1D und 2D, Parameter Wärmebild des Hauptversuches	67
<b>Abbildung 18:</b> Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle sowie der dazugehörigen Standardabweichung bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 8 der Gruppen 1C und 2C sowie 1D und 2D, Parameter Wärmebild des Hauptversuches	67

<b>Abbildung 19:</b> Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle bei den Messzeitpunkten T 9 bis T 14 der Gruppen 2A bis 2D, Parameter Wärmebild des Hauptversuches	68
<b>Abbildung 20:</b> Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle sowie der dazugehörigen Standardabweichung bei den Messzeitpunkten T 9 bis T 14 der Gruppen 1A und 2A sowie 1D und 2D, Parameter Wärmebild des Hauptversuches	68
<b>Abbildung 21:</b> Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle sowie der dazugehörigen Standardabweichung bei den Messzeitpunkten T 9 bis T 14 der Gruppen 1B und 2B sowie 1D und 2D, Parameter Wärmebild des Hauptversuches	69
<b>Abbildung 22:</b> Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle sowie der dazugehörigen Standardabweichung bei den Messzeitpunkten T 9 bis T 14 der Gruppen 1C und 2C sowie 1D und 2D, Parameter Wärmebild des Hauptversuches	69
<b>Abbildung 23:</b> Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 8 der Gruppen 1A bis 1D und 2A bis 2D, Parameter Körperinnentemperatur des Hauptversuches	76
<b>Abbildung 24:</b> Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle sowie der dazugehörigen Standardabweichung bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 8 der Gruppen 1A und 2A sowie 1D und 2D, Parameter Körperinnentemperatur des Hauptversuches	76
<b>Abbildung 25:</b> Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle sowie der dazugehörigen Standardabweichung bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 8 der Gruppen 1B und 2B sowie 1D und 2D, Parameter Körperinnentemperatur des Hauptversuches	77
<b>Abbildung 26:</b> Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle sowie der dazugehörigen Standardabweichung bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 8 der Gruppen 1C und 2C sowie 1D und 2D, Parameter Körperinnentemperatur des Hauptversuches	77
<b>Abbildung 27:</b> Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle bei den Messzeitpunkten T 9 bis T 14 der Gruppen 2A bis 2D, Parameter Körperinnentemperatur des Hauptversuches	78
<b>Abbildung 28:</b> Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle sowie der dazugehörigen Standardabweichung bei den Messzeitpunkten T 9 bis T 14 der Gruppen 1A und 2A sowie 1D und 2D, Parameter Körperinnentemperatur des Hauptversuches	78
<b>Abbildung 29:</b> Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle sowie der dazugehörigen Standardabweichung bei den Messzeitpunkten T 9 bis T 14 der Gruppen 1A und 2A sowie 1D und 2D, Parameter Körperinnentemperatur des Hauptversuches	79
<b>Abbildung 30:</b> Verlauf des Temperaturmittelwertes an der Injektionsstelle sowie der dazugehörigen Standardabweichung bei den Messzeitpunkten T 9 bis T 14 der Gruppen 1A und 2A sowie 1D und 2D, Parameter Körperinnentemperatur des Hauptversuches	79
<b>Abbildung 31:</b> makroskopischer Nachweis des Injektates	83
<b>Abbildung 32:</b> Parameter Plasmaerguss der histopathologischen Untersuchung	89
<b>Abbildung 33:</b> Parameter Fibrin der histopathologischen Untersuchung	90
<b>Abbildung 34:</b> Parameter Muskelfaserpathologie der histopathologischen Untersuchung	91
<b>Abbildung 35:</b> Parameter Einblutung der histopathologischen Untersuchung	92
<b>Abbildung 36:</b> Parameter Hohlraumbildung der histopathologischen Untersuchung	93
<b>Abbildung 37:</b> Hohlraumbildung bei einem Tier aus der Gruppe 1B	93
<b>Abbildung 38:</b> Parameter Fremdmaterial der histopathologischen Untersuchung	94

<b>Abbildung 39:</b> Parameter Nekrose der histopathologischen Untersuchung	95
<b>Abbildung 40:</b> Parameter neutrophile Granulozyten der histopathologischen Untersuchung	96
<b>Abbildung 41:</b> Parameter Monozyten und Macrophagen der histopathologischen Untersuchung	97
<b>Abbildung 42:</b> Parameter mehrkernige Riesenzellen der histopathologischen Untersuchung	98
<b>Abbildung 43:</b> Parameter Plasmazellen der histopathologischen Untersuchung	99
<b>Abbildung 44:</b> Parameter Lymphozyten der histopathologischen Untersuchung	100
<b>Abbildung 45:</b> Aufnahmen aus dem Lichtmikroskop (Kunststoffeinbettung, HE-Färbung) typischer histopathologischer Veränderungen, hervorgerufen durch die jeweiligen Injektate, Vergleich Hauptgruppe 1	102
<b>Abbildung 46:</b> Aufnahmen aus dem Lichtmikroskop (Kunststoffeinbettung, HE-Färbung) typischer histopathologischer Veränderungen, hervorgerufen durch die jeweiligen Injektate, Vergleich Hauptgruppe 2	104





## 10 Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1:</b> Übersicht über die verwendeten Impfstoffe/ Injektate bei den einzelnen Gruppen im Vor- und Hauptversuch	28
<b>Tabelle 2:</b> Übersicht über die bei den einzelnen Gewichtsklassen verwendeten Kanülengrößen	29
<b>Tabelle 3:</b> Gruppeneinteilung im Vorversuch	32
<b>Tabelle 4:</b> zeitliche Abfolge und beurteilte Parameter bei den einzelnen Messzeitpunkten	33
<b>Tabelle 5:</b> Score Allgemeinbefinden Vor- und Hauptversuch	34
<b>Tabelle 6:</b> Score lokale Gewebepalpation Vorversuch	35
<b>Tabelle 7:</b> Gruppeneinteilung Hauptversuch	37
<b>Tabelle 8:</b> zeitliche Abfolge und beurteilte Parameter bei den einzelnen Messzeitpunkten der Hauptgruppe 1	39
<b>Tabelle 9:</b> zeitliche Abfolge und beurteilte Parameter bei den einzelnen Messzeitpunkten der Hauptgruppe 2	39
<b>Tabelle 10:</b> Score lokale Gewebepalpation Hauptversuch	40
<b>Tabelle 11:</b> Zusammenhang zwischen Schnittebene und Lokalisation bzw. Tiefe der Probe in vivo	43
<b>Tabelle 12:</b> Scoresystem zur Vorauswahl der Proben zur histopathologischen Untersuchung	44
<b>Tabelle 13:</b> Score zur Beurteilung von neutrophilen Granulozyten, Monozyten und Macrophagen, mehrkernigen Riesenzellen, Lymphozyten und Plasmazellen sowie des Parameters Nekrose	45
<b>Tabelle 14:</b> Score zur Beurteilung der Parameter Plasmaerguss, Fibrin, Muskelfaserpathologie, Fremdmaterial und Einblutung	45
<b>Tabelle 15:</b> Temperaturwerte und Standardabweichungen in °C bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 6, Parameter Wärmebild des Vorversuches	48
<b>Tabelle 16:</b> p-Werte des Vergleiches der Gruppen A, B, C und D bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 6, Parameter Wärmebild des Vorversuches; $p \leq 0,05$	49
<b>Tabelle 17:</b> p-Werte des Vergleiches der Gruppen A, B und C mit der Kontrollgruppe D und den dazu gehörigen Kontrolluntergruppen $D_A$ , $D_B$ und $D_C$ bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 6, Parameter Wärmebild des Vorversuches; $p \leq 0,017$	49
<b>Tabelle 18:</b> p-Werte des Vergleiches der einzelnen Messzeitpunkte mit dem Ausgangswert und zwischen zwei aufeinander folgenden Messzeitpunkten, Messzeitpunkte T 0 bis T 6, Gruppen A, B, C, D, $D_A$ , $D_B$ und $D_C$ , Parameter Wärmebild des Vorversuches; $p \leq 0,05$	50
<b>Tabelle 19:</b> Temperaturwerte und Standardabweichungen in °C bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 6, Parameter Körpertemperatur des Vorversuches	54
<b>Tabelle 20:</b> p-Werte des Vergleiches der Gruppen A, B, C und D bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 6, Parameter Körpertemperatur des Vorversuches; $p \leq 0,05$	54
<b>Tabelle 21:</b> p-Werte des Vergleiches der Gruppen A, B und C mit der Kontrollgruppe D und den dazu gehörigen Kontrolluntergruppen $D_A$ , $D_B$ und $D_C$ bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 6, Parameter Körpertemperatur des Vorversuches; $p \leq 0,017$	54

<b>Tabelle 22:</b> p-Werte des Vergleiches der einzelnen Messzeitpunkte mit dem Ausgangswert und zwischen zwei aufeinander folgenden Messzeitpunkten, Messzeitpunkte T 0 bis T 6, Gruppen A, B, C, D, D <sub>A</sub> , D <sub>B</sub> und D <sub>C</sub> , Parameter Wärmebild des Vorversuches; $p \leq 0,05$	55
<b>Tabelle 23:</b> Anzahl der Tiere mit Veränderungen im Score lokale Gewebepalpation bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 6 des Vorversuches	59
<b>Tabelle 24:</b> Temperaturwerte und Standardabweichungen in °C bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 8, Gruppen 1A bis 1D und 2A bis 2D, Parameter Wärmebild des Hauptversuche	61
<b>Tabelle 25:</b> Temperaturwerte und Standardabweichungen in °C bei den Messzeitpunkten T 9 bis T 14, Gruppen 2A bis 2D, Parameter Wärmebild des Hauptversuches	61
<b>Tabelle 26:</b> p-Werte des Vergleiches der Gruppen 1A bis 1D sowie 2A bis 2D bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 8, Parameter Wärmebild des Hauptversuches; $p \leq 0,05$	62
<b>Tabelle 27:</b> p-Werte des Vergleiches der Gruppen 2A bis 2D bei den Messzeitpunkten T 9 bis T 14, Parameter Wärmebild des Hauptversuches; $p \leq 0,05$	62
<b>Tabelle 28:</b> p-Werte des Vergleiches der Gruppen 1A bis 1C und 2A bis 2C mit der Kontrollgruppe 1D und 2D und den dazu gehörigen Kontrolluntergruppen 1D <sub>A-C</sub> und 2D <sub>A-C</sub> bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 8, Parameter Wärmebild des Hauptversuches; $p \leq 0,017$	63
<b>Tabelle 29:</b> p-Werte des Vergleiches der Gruppen 2A bis 2C mit der Kontrollgruppe 2D und den dazu gehörigen Kontrolluntergruppen 2D <sub>A-C</sub> bei den Messzeitpunkten T 9 bis T 14, Parameter Wärmebild des Hauptversuches; $p \leq 0,017$	63
<b>Tabelle 30:</b> p-Werte des Vergleiches der einzelnen Messzeitpunkte mit dem Ausgangswert und zwischen zwei aufeinander folgenden Messzeitpunkten, Messzeitpunkte T 0 bis T 8, Gruppen 1A bis 1D und 2A bis 2D sowie 1D <sub>A-C</sub> und 2D <sub>A-C</sub> , Parameter Wärmebild des Hauptversuches; $p \leq 0,05$	64
<b>Tabelle 31:</b> p-Werte des Vergleiches der einzelnen Messzeitpunkte mit dem Ausgangswert und zwischen zwei aufeinander folgenden Messzeitpunkten, Messzeitpunkte T 9 bis T 14, Gruppen 2A bis 2D sowie 2D <sub>A-C</sub> , Parameter Wärmebild des Hauptversuches; $p \leq 0,05$	65
<b>Tabelle 32:</b> Temperaturwerte und Standardabweichungen in °C bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 8, Gruppen 1A bis 1D und 2A bis 2D, Parameter Körperinnentemperatur des Hauptversuches	71
<b>Tabelle 33:</b> Temperaturwerte und Standardabweichungen in °C bei den Messzeitpunkten T 9 bis T 14, Gruppen 2A bis 2D, Parameter Körperinnentemperatur des Hauptversuches	71
<b>Tabelle 34:</b> p-Werte des Vergleiches der Gruppen 1A bis 1D sowie 2A bis 2D bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 8, Parameter Körperinnentemperatur des Hauptversuches; $p \leq 0,05$	72
<b>Tabelle 35:</b> p-Werte des Vergleiches der Gruppen 2A bis 2D bei den Messzeitpunkten T 9 bis T 14, Parameter Körperinnentemperatur des Hauptversuches; $p \leq 0,05$	72
<b>Tabelle 36:</b> p-Werte des Vergleiches der Gruppen 1A bis 1C und 2A bis 2C mit der Kontrollgruppe 1D und 2D und den dazu gehörigen Kontrolluntergruppen 1D <sub>A-C</sub> und 2D <sub>A-C</sub> bei den Messzeitpunkten T 0 bis T 8, Parameter Körperinnentemperatur des Hauptversuches; $p \leq 0,017$	73
<b>Tabelle 37:</b> p-Werte des Vergleiches der Gruppen 2A bis 2C mit der Kontrollgruppe 2D und den dazu gehörigen Kontrolluntergruppen 2D <sub>A-C</sub> bei den Messzeitpunkten T 9 bis T 14, Parameter Körperinnentemperatur des Hauptversuches; $p \leq 0,017$	73
<b>Tabelle 38:</b> p-Werte des Vergleiches der einzelnen Messzeitpunkte mit dem Ausgangswert und zwischen zwei aufeinander folgenden Messzeitpunkten, Messzeitpunkte T 0 bis T 8, Gruppen 1A bis 1D und 2A bis 2D sowie 1D <sub>A-C</sub> und 2D <sub>A-C</sub> , Parameter Körperinnentemperatur des Hauptversuches; $p \leq 0,05$	74

<b>Tabelle 39:</b> p-Werte des Vergleiches der einzelnen Messzeitpunkte mit dem Ausgangswert und zwischen zwei aufeinander folgenden Messzeitpunkten, Messzeitpunkte T 9 bis T 14, Gruppen 2A bis 2D sowie 2D <sub>A-C</sub> , Parameter Körperinnentemperatur des Hauptversuches; $p \leq 0,05$	75
<b>Tabelle 40:</b> Anzahl der Tiere mit Veränderungen bzgl. des Kriteriums Schwellung im Score lokale Gewebepalpation Hauptversuch, Messzeitpunkte T 0 bis T 14, Hauptgruppen 1 und 2	81
<b>Tabelle 41:</b> Anzahl der Tiere mit Veränderungen bzgl. des Kriteriums Rötung im Score lokale Gewebepalpation Hauptversuch, Messzeitpunkte T 0 bis T 14, Hauptgruppen 1 und 2	82
<b>Tabelle 42:</b> Übersicht über die Gewebeprobe mit der Hauptlokalisation der Entzündungsreaktion in den Gewebeproben der Tiere aus Hauptgruppe 1 zur weiteren histopathologischen Untersuchung	84
<b>Tabelle 43:</b> Übersicht über die Gewebeprobe mit der Hauptlokalisation der Entzündungsreaktion in den Gewebeproben der Tiere aus Hauptgruppe 2 zur weiteren histopathologischen Untersuchung	85
<b>Tabelle 44:</b> Lokalisation des höchsten Entzündungsgrades in Bezug auf die Schnittebene, Anzahl der Tiere je Gruppe in Bezug auf die Schnittebene mit dem höchsten Grad an Entzündung	87
<b>Tabelle 45:</b> Anzahl der Tiere je Gruppe in Bezug auf die Intensität der Entzündung in der untersuchten Gewebeprobe	88



## 11 Literaturverzeichnis

**ACKERMANN, M. (2009a):**

Akute Entzündung

In: MC GAVIN, M.D.; ZACHARY, J.F. (Hrsg.): Pathologie der Haustiere  
1. Auflage 2009, Urban und Fischer Verlag/ Elsevier GmbH: 95-142

**ACKERMANN, M. (2009b):**

Chronische Entzündung und Wundheilung

In: MC GAVIN, M.D.; ZACHARY, J.F. (Hrsg.): Pathologie der Haustiere  
1. Auflage 2009, Urban und Fischer Verlag/ Elsevier GmbH: 143-182

**AMANN, K. (1954):**

Die forensische Bedeutung der Injektionsschäden  
Schweiz. Arch. Tierheil., 96: 569-575

**AKTAS, M.; VINCLAIR, P.; LEFEBVRE, H.P.; TOUTAIN, P.L.; BRAUN, J.P. (1995):**

In vivo quantification of muscle damage in dogs after intramuscular administration of drugs  
Br. Vet. J., 151: 189-196

**BAUMGÄRTNER, W.; SCHMIDT, P. (2011):**

Entzündung

In: BAUMGÄRTNER, W.; GRUBER, A. (Hrsg.): Allgemeine Pathologie für die Tiermedizin  
1. Auflage 2011, Enke Verlag: 180-221

**BAUMGÄRTNER, W.; GRUBER, A. (2011):**

Degeneration, Regeneration, Reparation und Wachstumsstörungen

In: BAUMGÄRTNER, W.; GRUBER, A. (Hrsg.): Allgemeine Pathologie für die Tiermedizin  
1. Auflage 2011, Enke Verlag: 86-139

**BEUBLER, E. (2011):**

Arzneiformen

In: BEUBLER, E. (Hrsg.): Kompendium der Pharmakologie  
3. Auflage, Springer Verlag: 25-34

**BOEHRINGER INGELHEIM (2007):**

Ingelvac<sup>®</sup> M.hyo

Gebrauchsinformation 27154-04

**BOEHRINGER INGELHEIM (2008a):**

Ingelvac Circoflex<sup>®</sup>

Gebrauchsinformation 30972-01

**BOEHRINGER INGELHEIM (2008b):**

Ingelvac<sup>®</sup> Flu

Gebrauchsinformation 2.2-V183/R184-42694

**BOEHRINGER INGELHEIM (2012a):**

Pig Products

Adresse: [http://www.boehringer-ingelheim.co.uk/medicines/swine\\_products.html](http://www.boehringer-ingelheim.co.uk/medicines/swine_products.html)

Letzter Zugriff: 31.05.2012

**BOEHRINGER INGELHEIM (2012b):**

Vaccination: Ingelvac M.hyo

Adresse: <http://www.mhyo.co.uk/do/en/Vaccination.asp>

Letzter Zugriff: 31.05.2012

**BOEHRINGER INGELHEIM (2012c):**

The Impran adjuvant System

Adresse: <http://www.mhyo.co.uk/do/en/TheImpranadjuvantsystem.asp>

Letzter Zugriff: 31.05.2012

**BOEHRINGER INGELHEIM (2012d):**

ImpranFlex® aqueous adjuvants

Adresse: <http://www.ingelvacflex.co.uk/mycoflex/why-should-i-use-it/impranflex.php>

Letzter Zugriff: 31.05.2012

**BREUHAUS, B.A.; BROWN, C.M.; SCOTT, E.A.; AINSWORTH, D.M.; TAYLOR, R.F. (1983):**

Clostridial muscle infections following intramuscular injections in the horse

Equine Veterinary Science, 3, 2: 42-46

**BUNDESMINISTERIUM FÜR ERNÄHRUNG, LANDWIRTSCHAFT UND FORSTEN (2011):**

Anzahl der für Versuche und andere wissenschaftliche Zwecke verwendeten Wirbeltiere

Adresse: [http://www.bmelv.de/SharedDocs/Downloads/Landwirtschaft/Tier/Tierschutz/2010-TierversuchszahlenGesamt.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](http://www.bmelv.de/SharedDocs/Downloads/Landwirtschaft/Tier/Tierschutz/2010-TierversuchszahlenGesamt.pdf?__blob=publicationFile)

Letzter Zugriff: 31.05.2012

**BUNDESAMT FÜR VETERINÄRWESEN (1999):**

Fachgerechte und tierschutzkonforme Antikörperproduktion in Kaninchen, Hühnern und

Labornagetieren

Richtlinie Tierschutz 3.04, Bern, Schweiz

**COX, J.C.; COULTER, A.R. (1997):**

Adjuvants – a Classification and Review of Their Modes of Action

Vaccine, 15: 248-256

**EIKMEIER, H. (1973):**

„Aseptische Nekrosen“ nach i.m. Injektionen beim neugeborenen Welpen

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr., 86: 413-414

**ELICKER, S. (2006):**

Untersuchungen zur Festlegung tierschutzkonformer Injektionsvolumina bei Schweinen

Vet. Med. Diss., München

**EUROPÄISCHES ARZNEIBUCH (2002):**

4. Ausgabe, Deutscher Apothekerverlag

**FLIR SYSTEMS (2011):**

Grundlagen

Adresse: <http://www.flir.com/cs/emea/de/view/?id=41536>

Letzter Zugriff: 31.05.2012

**GABRIEL, F. (2008):**

Klinische Anwendung der Infrarot-Thermografie bei der Diagnostik von Gelenkentzündungen beim

Schwein - ein Vergleich pathologischer und thermografischer Befunde

Vet. Med. Diss., Zürich

**GASS-COFRE, A. (2007):**

Untersuchungen zu Verträglichkeit und Wirksamkeit der Simultanimpfung von Sauherden mit

Progressis und Parvoruvac gegen PRRS, Parvovirose und Rotlauf

Vet. Med. Diss., Hannover

**GLAS, A. (2008):**

Vergleichende Untersuchung klinisch gesunder und mit Escherichia coli infizierter Euterviertel von

Kühen mittels Infrarotthermographie

Vet. Med. Diss., München

**GLENNY, A.T.; POPE, C.G.; WADDINGTON, H.; WALLACE, W. (1926):**

Immunological Notes. XXIII. The Antigenic Value of Toxoic Precipitates by Potassium Alum

J. Path. Bact., 29: 38-39

**GUPTA, R.K.; RELYVELD, E.D.; LINDBLAD, E.B.; BIZZINI, B.; BEN-EFRAIM, S.; GUPTA, C.K. (1993):**

Adjuvants - a Balance between Toxicity and Adjuvanticity  
Vaccine, 11: 293-306

**HARTINGER, J.; MATEIS, W. (1998):**

Steckbriefe immunologischer Adjuvantien: II. Aluminium-Gele  
Der Tierschutzbeauftragte, 1: 47-48

**HEINRITZI (2006):**

Applikationstechniken

In: HEINRITZI, K.; GINDELE, H.-R.; REINER, G.; SCHNURRBUSCH, U. (Hrsg.):

Schweinekrankheiten

1. Auflage, Eugen Ulmer Verlag: 44-47

**HERBACH, N. (2005):**

Adjuvants designed for M. hyopneumoniae vaccines

International Pig Topics, 20, 5: 7-9

**HERGENHAN, C. (2009):**

Untersuchungen zu injektionsassoziierten Reaktionen mit besonderer Berücksichtigung aluminiumhaltiger Impfstoffe am Frettchen

Vet. Med. Diss., Gießen

**INFRATEC (2011a):**

Anwendungsgebiete

Adresse: <http://www.infratec.de/de/thermografie.html>

Letzter Zugriff: 31.05.2012

**INFRATEC (2011b):**

Thermografie Wissen

Adresse: <http://www.infratec.de/de/thermografie/thermografie-wissen.html>

Letzter Zugriff: 31.05.2012

**JANEWAY, C.; TRAVERS, P.; WALPORT, M.; SHLOMCHICK, M. (2002):**

In: JANEWAY, C.; TRAVERS, P.; WALPORT, M.; SHLOMCHICK, M. (Hrsg.): Immunologie

5. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag

**KAEBERLE, M. (1986):**

Function of carriers and adjuvants in induction of immune response

NERVIG, R.; GOUGH, P.; KAEBERLE M.; WHITESTONE, C. (Hrsg.): Advances in carriers and adjuvants for veterinary biologics

Iowa State Univ. Press, Ames, IA: 11-23

**KERN, O. (1987):**

Lokalverträglichkeit von Arznei- und Arzneihilfsstoffen bei intramuskulärer Injektion

Tierärztliche Umschau, 42: 768-775, 912-916, 971-972

**KÜLBS, D. (2005):**

Verträglichkeit und Effektivität neuer synthetische Adjuvantien bei der Erzeugung von Antikörpern gegen Synaptobrevin 2-Fragmente in der Balb/ c- Maus

Vet. Med. Diss., Gießen

**MC GAVIN, M.D.; ZACHARY, J.F. (2009):**

In: MC GAVIN, M.D.; ZACHARY, J.F. (Hrsg.): Pathologie der Haustiere

1. Auflage 2009, Urban und Fischer Verlag

**PAULICK, C.H.; NEURAND K.; WILKENS H. (1967):**

Beitrag zur topographischen Anatomie der Injektionsstellen beim Schwein

Dtsch. Tierärztl. Wschr., 74: 519-524

**PETERSEN, B.; HAAS, N.; SCHWARTZ, K.; KOLB, J.; DIAZ, E. (2008):**

Comparative safety of PCV2 vaccines under normal conditions of use  
Proceedings of the 20<sup>th</sup> IPVS Congress, Durban, South Africa: 42

**PLONAIT, H. (2004):**

Medikamentöse Behandlung einzelner Tiere  
In: WALDMANN, K.-H.; WENDT, M. (Hrsg.): Lehrbuch der Schweinekrankheiten  
4. Auflage, Parey Verlag: 45-54

**PRANGE, H. (2004):**

Spezifische Immunprophylaxe.  
In: PRANGE, H. (Hrsg.): Gesundheitsmanagement Schweinehaltung  
1. Auflage 2004, Eugen Ulmer Verlag: 436-444

**RICHTLINIE 2001/82/EG:**

Des Europäischen Parlaments und des Rates vom 6. November 2001  
Schaffung eines Gemeinschaftskodexes für Tierarzneimittel

**RICHTLINIE 2009/9/EG:**

Der Kommission vom 10. Februar 2009  
zur Änderung der Richtlinie 2001/82/EG des Europäischen Parlaments und des Rates zur Schaffung  
eines Gemeinschaftskodexes für Tierarzneimittel

**RÖHLINGER, P.; GRUNOW, C. H.; REICHMANN, A.; ZIMMERHACKEL, M. (1979):**

Voruntersuchungen zur Ermittlung der Anwendungsgebiete der Infrarotmeßtechnik in der  
Veterinärmedizin  
Monatshefte für Veterinärmedizin, 34: 287-291

**SAVARY, P.; HAUSER, B.; OSSENT, P.; JUNGBLUTH, T.; GYGAX, L.; WECHSLER, B. (2008):**

Eignung der Thermographie zur Erfassung von Entzündungen an den Gliedmaßen von  
Mastschweinen  
Dtsch. Tierärztl. Wschr., 115: 324-329

**SCHIJNS, V. (2000):**

Immunological Concepts of Vaccine Adjuvant Activity  
Curr. Op. Immunol., 12: 456 – 463

**SCHULZE, M. (2003):**

Thermographie am Huf  
Vet. Med. Diss., Berlin

**SCHWARTZ, K.; KOLB, J.; CHRISTMAS, R. (2007):**

Injection site histologic lesions induced by commercial PCV2 piglet vaccines  
5th International Symposium on Emerging and Re-emerging Pig Diseases - Krakow, Poland: 116

**SEEBER, S.; WHITE, J.; HERN, S. (1991):**

Predicting the adsorption of proteins by aluminium containing adjuvants  
Vaccine, 9: 201-203

**SEPPIC (2011a):**

Montanide ISA  
Adresse: <http://www.seppic.com/1112/view-979-category.html>  
Letzter Zugriff: 31.05.2012

**SEPPIC (2011b):**

Montanide ISA 25VG  
Adresse: <http://www.seppic.com/animal-health/vaccine-adjuvant/montanide-isa/montanide-isa-25-vg-@/view-483-seproduit.html>  
Letzter Zugriff: 31.05.2012



**TRAULSEN, I; NAUNIN, K.; MÜLLER, K.; KRIETER, J. (2010):**

Untersuchungen zum Einsatz der Infrarotthermographie zur Messung der Körpertemperatur bei Sauen  
Züchtungskunde, Eugen Ulmer Verlag, 82, 6: 437–446

**THEIN, P. (1988):**

Adjuvantien: Immunmodulation und Immunstimulation  
Vet. Med. Nachr. 59: 3-8

**TIERÄRZTLICHE UMSCHAU (2012):**

Tierärztliche Umschau Spezial – Impfstoffe und Sera  
Tierärztliche Umschau, Sonderbeilage August 2012

**TIZARD, J.R. (1981):**

Grundlagen der Immunreaktion  
In: TIZARD, J.R. (Hrsg.): Einführung in die veterinärmedizinische Immunologie für Tiermediziner,  
Biologen und Agrarwissenschaftler  
1. Auflage 1981, Paul Parey Verlag: 1-9

**VAN DER VEN, H. (2002):**

Zur Wirksamkeit verschiedener Adjuvantien in bakteriellen bestandsspezifischen Vakzinen für Puten  
Vet. Med. Diss., Hannover

**WARRISS, P.D.; POPE, S.J.; BROWN, S.N.; WILKINS, L.J.; KNOWLES, T.G. (2006):**

Estimating the body temperature of groups of pigs by thermal imaging  
Vet. Rec., 158: 331-334

**WILHELM, K. (2010):**

Die subklinische Klauenrehe beim Milchrind – thermographische Untersuchungen der Klaue und  
Beziehungen zum Energiestoffwechsel  
Vet. Med. Diss., Leipzig

**ZELLER, R. (1958):**

Über die Haftpflicht des Tierarztes bei Injektionen  
Prakt. Tierarzt, 39: 10-13

**VERORDNUNG Nr. 470/2009 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES (2009):**

Schaffung eines Gemeinschaftsverfahrens für die Festsetzung von Höchstmengen für Rückstände  
pharmakologisch wirksamer Stoffe in Lebensmitteln tierischen Ursprungs, zur Aufhebung der  
Verordnung (EWG) Nr. 2377/90 des Rates und zur Änderung der Richtlinie 2001/82/EG des  
Europäischen Parlaments und des Rates und der Verordnung (EG) Nr. 726/2004 des Europäischen  
Parlaments und des Rates



## Danksagung

Herrn Professor Dr. Karl Heinritzi danke ich für die Überlassung des Dissertationsthemas.

Seinem Nachfolger, Herrn Professor Dr. Mathias Ritzmann danke ich für die Fortführung der Betreuung während der Fertigstellung meiner Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt allen Doktoranden und Studenten der Klinik für Schweine der Tierärztlichen Fakultät der LMU München für Ihre Mithilfe.

Ganz besonderer Dank geht an die Tierpfleger der Klinik für Schweine, Herrn Gino Cafiero, Herrn Sven Brockhaus und Frau Ebru Pasculli für die intensive Betreuung und Versorgung meiner Versuchstiere und die sehr gute Zusammenarbeit.

Frau Bärbel Garner möchte ich für die stetige moralische Unterstützung und die vielen Tipps und Ratschläge danken.

Besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. Walter Hermanns und den Mitarbeitern des Instituts für Tierpathologie der LMU München für die gute Betreuung und für ihre tatkräftige Unterstützung bei der Bearbeitung und Auswertung meiner Proben.

Ganz besonderer Dank gebührt Frau Dr. Daniela Emrich vom Institut für Tierpathologie für die tatkräftige Unterstützung sowie die unermüdliche, zeitintensive und herausragende Betreuung während des gesamten Zeitraumes meiner Dissertation.

Herrn Dipl.Ing. Horst Laffert danke ich für die Möglichkeit, dass ich einen Teil meiner Versuche am Lehr- und Versuchsgut der TU München in Thalhausen durchführen konnte.

Herrn Conrad Praller danke ich für die gute und unkomplizierte Zusammenarbeit und die Betreuung meiner Versuchstiere.

Weiter möchte ich mich bei der Firma Boehringer Ingelheim bedanken, ohne deren materielle und finanzielle Unterstützung diese Arbeit nicht hätte durchgeführt werden können.